10e Année. — N° 4 *(Trimestriel)*. Octobre-Novembre-Décembre 1959

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE

ANNALES DE L'INSTITUT NATIONAL
DE LA
RECHERCHE AGRONOMIQUE

SÉRIE C

ANNALES
DES ÉPIPHYTIES

PATHOLOGIE VÉGÉTALE - ZOOLOGIE AGRICOLE
PHYTOPHARMACIE

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

AVIS AUX LECTEURS

Des modifications importantes ont été apportées pour l'année 1959 aux Annales de l'Institut National de la Recherche Agronomique, en vue de mieux adapter l'ensemble de ces publications aux besoins des lecteurs. D'une part, une série nouvelle vient d'être créée : la série A *bis*, consacrée à la Physiologie Végétale, qui paraîtra 4 fois par an. D'autre part, dans les autres séries, le nombre moyen de pages a été augmenté. Désormais, les Annales de l'Institut National de la Recherche Agronomique comprendront les séries suivantes :

Série A — **ANNALES AGRONOMIQUES.** — Agronomie générale et science du sol — couverture crème — 6 fascicules par an d'environ 120 pages.

Série A bis — **ANNALES DE PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE.** — Couverture bleue — 4 fascicules par an d'environ 50 pages.

Série B — **ANNALES DE L'AMÉLIORATION DES PLANTES.** — Couverture verte — 4 fascicules par an d'environ 120 pages.

Série C — **ANNALES DES ÉPIPHYTIES.** — Couverture rouge — 4 fascicules par an d'environ 120 pages.

Série C bis — **ANNALES DE L'ABEILLE.** — Couverture ocre — 4 fascicules par an d'environ 80 pages.

Série D — **ANNALES DE ZOOTECHNIE.** — Couverture jaune — 4 fascicules par an d'environ 80 pages.

Série E — **ANNALES DE TECHNOLOGIE AGRICOLE.** — Couverture grise — 4 fascicules par an d'environ 120 pages.

(Voir en page 3 de la couverture les conditions nouvelles d'abonnement).

N. B. — De nouvelles modifications seront apportées pour 1960. Elles seront annoncées dans le prochain fascicule.

Les commandes d'ouvrages doivent être adressées au Régisseur des publications. Adresse provisoire : Bâtiment provisoire du Palais de Chaillot, Aile Passy, Paris.

Règlement : par chèque bancaire à l'ordre du Régisseur des publications, par virement postal, à son compte courant : Paris 9064-43 ou par bons U. N. E. S. C. O.

EFFETS D'UN TRAITEMENT TEMPORAIRE DES CHRYSALIDES A BASSE TEMPÉRATURE SUR LES PHÉNOMÈNES ULTÉRIEURS DE LA REPRODUCTION CHEZ *BOMBYX MORI L.*

PAR

LEGAY J-M. (1)

Station de Recherches Séricicoles, Alès.

Chez les insectes, de nombreux auteurs ont étudié l'influence de températures hautes ou basses sur les phénomènes de la reproduction. Mais la plupart ont imposé le traitement aux animaux adultes eux-mêmes et constaté des effets immédiats.

Chez le ver à soie, par exemple, CHIOSSI (1937), TEODORO (1940) et plus récemment FUJIMOTO (1956), ont observé les effets du froid sur les papillons femelles et sur leur ponte tandis que KOBAYASHI (1947) a étudié les effets de la température sur la vitesse du développement nymphal lui-même. La très ancienne étude de COLASANTI (1879) s'était cependant souciée d'appliquer le froid aux chrysalides et d'en constater les conséquences sur les papillons. D'autre part, ALLEGRET (1956), au cours d'une discussion sur les bilans azotés chez la nymphe de *Bombyx mori*, signalait brièvement qu'un refroidissement temporaire des chrysalides à 5-6°C modifie la fécondité des femelles.

D'autre part, dans la pratique des croisements, chez le ver à soie, il nous était arrivé, afin de pouvoir faire coïncider l'éclosion des papillons dont l'élevage avait été décalé, de retarder le développement d'animaux par l'action du froid appliqué aux adultes ou aux chrysalides. Nous avions observé que dans ces conditions, les phénomènes de la reproduction étaient irréguliers. Une première expérience préliminaire nous avait appris qu'un séjour de plus de deux mois à basse température (0°C), entraînait une mortalité totale des chrysalides. Une dernière série d'essais préliminaires, utilisant cette fois la température de 4°C, et limités à 30 jours, nous avait permis de noter une diminution du pourcentage d'éclosion, des difficultés d'accouplement et un abaissement de la fertilité et de la fécondité.

L'ensemble de ces observations nous a conduit à organiser une expé-

(1) Avec la collaboration technique de Mlle J. ANDRESS.

rimentation systématique et à étudier sur les papillons les effets du froid imposé aux chrysalides. D'ailleurs, d'une façon générale, les recherches physiologiques actuelles montrent qu'il est souvent très intéressant d'observer non pas ce qui se passe pendant le traitement lui-même, mais ce qui se produit par la suite, c'est-à-dire de mettre en évidence des effets différés et de tenter leur explication.

PREMIÈRE PARTIE

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Les chrysalides utilisées comme matériel provenaient d'un élevage d'automne (race 200-300 des Établissements ROUSTAN), réalisé selon des techniques d'élevage améliorées (3 repas par jour : 6 heures, 14 heures et 21 heures sous papier paraffiné) ; le dernier stade larvaire lui-même a été maintenu en alimentation continue grâce à la distribution de rameaux de murier entiers. L'élevage a duré exactement 30 jours et la mue nymphale est intervenue le 27 septembre, date à partir de laquelle les expériences ont effectivement commencé.

Comme l'indique le tableau I, le plan expérimental avait prévu que le traitement au froid, à 4°C ± 1°, soit appliqué à trois moments différents : aussitôt après la mue nymphale, 5 jours après et 10 jours après ; de plus le traitement lui-même a été de durée variable de 7 à 42 jours,

TABLEAU I

Plan expérimental.

Série	Date de la mue nymphale	Début du traitement à 4° ± 1° (séries de 120 ♂ et de 120 ♀)	Fin du traitement (lots de 20 ♂ et 20 ♀)	Durée du traitement à 4° C. en jours	N° du lot
A	27 Septembre	27 septembre (c'est-à-dire dès la fin de la mue nymphale)	4 octobre	7	I
			11 «	14	II
			18 «	21	III
			25 «	28	IV
			1 novembre	35	V
			8 «	42	VI
B	27 Septembre	2 octobre (c'est-à-dire 5 jours après la mue nymphale)	9 octobre	7	I
			16 «	14	II
			23 «	21	III
			30 «	28	IV
			6 novembre	35	V
			13 «	42	VI
C	27 Septembre	7 octobre (c'est-à-dire 10 jours après la mue nymphale)	14 octobre	7	I
			21 «	14	II
			28 «	21	III
			4 novembre	28	IV
			11 «	35	V
			18 «	42	VI

ce qui nous a donné trois séries de 6 lots d'animaux, auxquels nous avons ajouté un lot témoin.

Chaque lot comprenait 40 individus permettant l'étude séparée de 20 mâles et de 20 femelles.

En dehors du traitement au froid, la température était constante et réglée à 22°C ± 1°.

D'autre part, lorsque nous avions ouvert les cocons, lors de nos expériences préliminaires, nous avions observé deux phénomènes : ou bien le papillon était éclos et n'avait pu percer le cocon, ou bien l'exuviation elle-même ne s'était pas produite et le papillon, bien que parfaitement formé, n'avait pu se débarrasser de l'enveloppe nymphale.

Pour éviter de perdre les papillons incapables de percer leur cocon, nous avons pris la précaution, dans les expériences rapportées ici, d'ouvrir les cocons, de sortir les chrysalides et de les placer dans de la sciure de bois grossière, où l'éclosion s'effectue aisément.

Au moment de la naissance des papillons nous avons noté : le nombre de chrysalides mortes, le nombre de papillons éclos chaque jour, l'allure générale des papillons, leur comportement — en particulier pour l'accouplement.

Les papillons ont été étudiés individuellement et les femelles mises à pondre dans des cellules (sacs en papier sulfurisé). Les œufs des pontes obtenues ont été lavés, triés, pesés et comptés. Les femelles ont été conservées dans tous les cas, qu'elles aient pondu ou non et ont été disséquées afin de contrôler le nombre d'œufs non pondus.

DEUXIÈME PARTIE

RÉSULTATS

I. — LA VIE NYMPHALE ET LA MUE IMAGINALE

A. — La mortalité des chrysalides

Quels que soient la durée et le moment du traitement, la mortalité est *toujours faible* (cf. tableau II).

Pour les chrysalides placées à 4°C, 5 ou 10 jours après la mue nymphale, c'est la durée du séjour qui entraîne progressivement la mortalité ; celle-ci n'atteint cependant que 10 p. 100 après 42 jours de froid.

Pour les chrysalides traitées immédiatement après la mue nymphale, la mortalité n'est sensible au contraire que dans les lots subissant une ou deux semaines de froid ; il semble que les variations rapprochées de la température constituent un facteur défavorable.

TABLEAU II

Mortalité observée au stade chrysalide dans les différents lots expérimentaux (en nombre d'individus).

Séries	Sexe	Lots					
		I	II	III	IV	V	VI
A	♂	2	1	0	0	0	1
	♀	1	1	1	1	0	0
B	♂	0	0	0	1	1	1
	♀	1	0	0	1	0	1
C	♂	0	0	0	0	2	1
	♀	0	0	1	1	1	3

B. — L'éclosion des papillons

a) Cas d'une émergence normale.

Dans le cas où les papillons se débarrassent normalement de leur exuvie nymphale, nous avons noté la date de l'émergence, donc la durée de la vie nymphale, l'échelonnement et l'intensité quotidiens des naissances.

Nous avons admis qu'à 4°C le développement était complètement stoppé et nous avons donc estimé la durée de la vie nymphale au temps mis pour éclore diminué du temps passé au froid.

L'ensemble des résultats est présenté de façon synthétique dans les graphiques de la figure 1. Comme nous n'avons pas trouvé de différences significatives selon le sexe, nous n'avons fait état, pour simplifier ces graphiques, que de données moyennes.

Nous remarquons que l'influence exercée par les divers traitements sur la durée de la vie nymphale entraîne des différences qui n'excèdent pas 20 p. 100.

Il apparaît d'autre part, qu'un traitement de 6 semaines au froid ne prolonge pas la vie nymphale plus que ne le fait un traitement d'une semaine. Par contre, un traitement de trois semaines, quel que soit le moment où il est appliqué, entraîne un net retard dans l'apparition des papillons.

b) Cas d'une émergence anormale.

En dehors de la mortalité intervenant au stade nymphal, d'autres causes peuvent empêcher l'éclosion apparente des papillons : soit que le papillon ne puisse percer son cocon, soit qu'il ne puisse même pas se débarrasser de son exuvie ; comme nous l'avons signalé dans notre protocole expérimental, nous avons supprimé la première de ces possibilités.

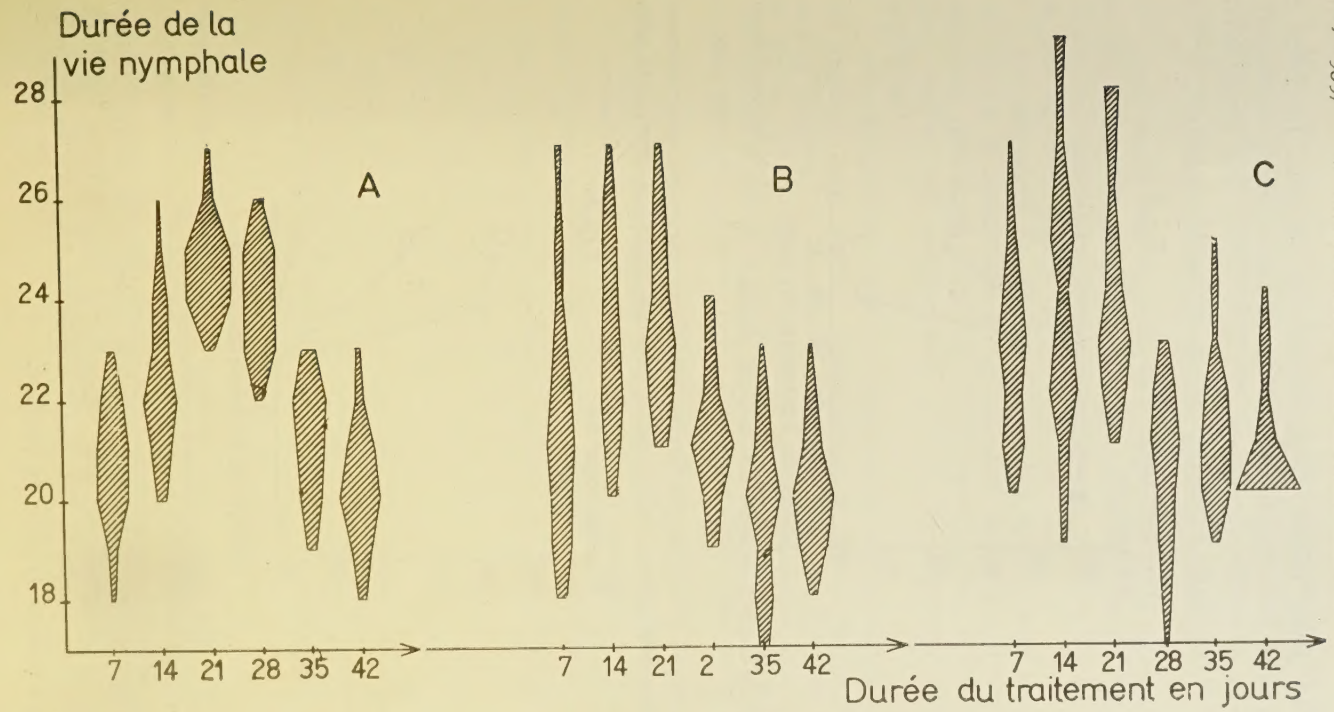


FIG. 1. — Durée de la vie nymphale selon le moment et la durée du traitement au froid des chrysalides.
A : traitement aussitôt après la mue nymphale. — B : 5 jours après. — C : 10 jours après.

Nous avons résumé graphiquement nos résultats. La figure 2 montre que le pourcentage d'éclosion des papillons diminue rapidement, lorsque les chrysalides ont séjourné plus de 28 jours à basse température, surtout si celle-ci est appliquée 5 ou 10 jours après la mue nymphale.

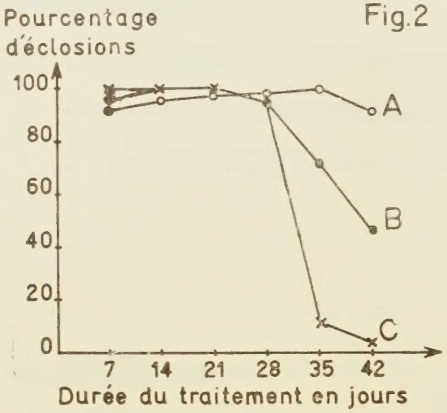


FIG. 2. — Pourcentage d'éclosions des papillons à la suite d'un séjour au froid des chrysalides en fonction de la durée du traitement et du moment du traitement.
A : traitement aussitôt après la mue nymphale. — B : 5 jours après. — C : 10 jours après.

La figure 3 indique que la non-éclosion s'accompagne généralement d'une non-exuviation, puisque 80 p. 100 des individus ayant subi plus

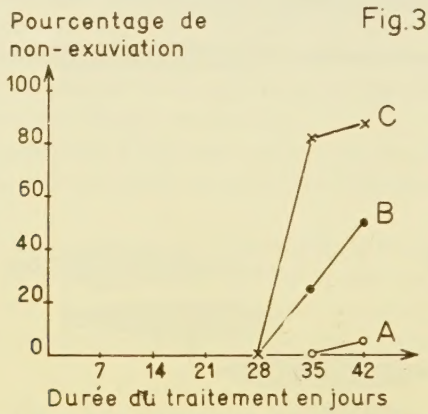


FIG. 3. — Pourcentage de non-exuviation des papillons à la suite d'un séjour au froid des chrysalides en fonction de la durée et du moment du traitement.
A : traitement aussitôt après la mue nymphale. — B : 5 jours après. — C : 10 jours après.

de 35 jours de froid, 10 jours après la mue nymphale, ne peuvent accomplir une mue imaginale normale ; cependant la différenciation imaginale s'est effectuée, puisqu'en enlevant l'exuvie, on découvre un tégument couvert d'écailles, typique du papillon.

Même dans le cas d'éclosion, comme nous allons le voir, les derniers processus de la mue imaginale peuvent être anormaux chez les animaux des lots les plus sévèrement traités.

c) **L'aspect morphologique des papillons à l'éclosion.**

Dans chaque série et au fur et à mesure des éclosions, nous avons en effet, observé l'aspect morphologique des papillons mâles et femelles. Nous avons noté de plus, la relation qui existait entre leur comportement et leur aspect extérieur.

Les chrysalides des séries I et II des lots A, B, C, restées moins de 14 jours à la température de 4°C donnent naissance à des papillons normaux ; leurs écailles sont bien sèches et gonflées, leurs ailes complètement étalées, leur comportement normal ; l'accouplement intervient rapidement.

Dans les séries suivantes (21 jours de froid et plus, surtout lorsqu'il est appliqué tard), l'aspect morphologique se trouve progressivement modifié (tableau III). Les ailes sont atrophiées ou « froissées », les écailles se sèchent difficilement, le méconium se répand souvent dans la cavité générale, les papillons prennent un aspect flasque et sale. Leur comportement est anormal.

Tableau III

Pourcentage de papillons qui ne présentent pas un aspect morphologique normal après traitement au froid des chrysalides.

Séries	Sexe	Lots					
		I	II	III	IV	V	VI
A	♂	0	0	5	0	5	0
	♀	0	0	10	5	11	22
B	♂	0	0	19	27	56	100
	♀	0	0	26	44	69	100
C	♂	0	0	50	85	non exuviation	
	♀	0	0	70	100	100	100

II. — LA REPRODUCTION

A. — L'aptitude à l'accouplement

Nous avons en effet, observé qu'un certain pourcentage de papillons refusaient de s'accoupler. Le graphique de la figure 4 montre la diminution de cette aptitude à l'accouplement selon la durée et le moment du traitement au froid.

On notera qu'un séjour précoce des chrysalides à 4°C même s'il est de longue durée, ne modifie pas sensiblement cette aptitude. Au contraire, un séjour tardif, 5 ou 10 jours après la mue nymphale, entraîne,

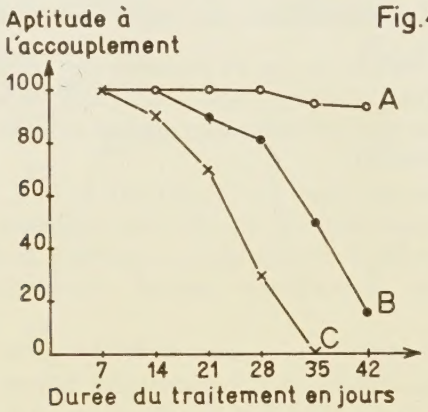


Fig. 4. — Diminution de l'aptitude à l'accouplement des papillons à la suite d'un séjour au froid des chrysalides en fonction de la durée et du moment du traitement.
A : traitement aussitôt après la mue nymphale. — B : 5 jours après. — C : 10 jours après.

pour plus de 3 semaines de traitement, une incapacité des papillons à s'accoupler, qui devient rapidement très élevée.

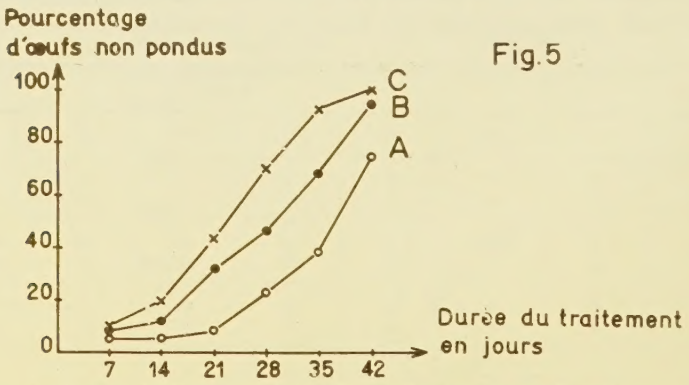


Fig. 5. — Pourcentage d'œufs non pondus par des femelles dont les chrysalides ont subi un séjour au froid, en fonction de la durée et du moment du traitement.
A : traitement aussitôt après la mue nymphale. — B : 5 jours après. — C : 10 jours après.

Nous avons étudié pour chaque femelle expérimentée le nombre d'œufs pondus, le nombre et les caractéristiques pondérales des œufs normaux, le nombre d'œufs stériles, et nous avons déterminé, grâce à des dissections systématiques, le nombre des œufs non pondus (cf. tableau de données numériques, IV).

B. — Aptitude à la ponte

Nous avons ainsi, mis en évidence que, quel que soit le moment du traitement appliqué aux chrysalides, celui-ci conduisait les papillons femelles qui en étaient issus, à retenir leurs œufs.

Comme le montre le graphique de la figure 5, le pourcentage d'œufs non pondus devient très important, dès que le traitement dépasse quelques semaines.

C. — Fécondité

La fécondité s'exprime généralement par le nombre d'œufs normaux que la femelle a pondus, c'est-à-dire ceux qui donneront effectivement naissance à une descendance.

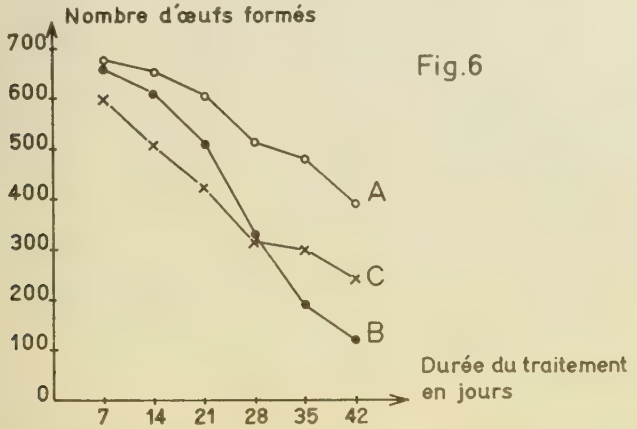


FIG. 6. — Diminution dans l'intensité de l'ovogénèse provoquée par un séjour au froid des chrysalides exprimée en nombre d'œufs formés, selon le moment et la durée du traitement.
A : traitement aussitôt après la mue. - B : 5 jours après. — C : 10 jours après.

Le traitement au froid des chrysalides conduit les papillons à une fécondité nulle, quel que soit le moment de cette exposition. C'est ce qu'indique clairement le tableau IV.

Cependant, comme nous venons de voir que l'aptitude à la ponte était largement modifiée par le traitement, il était très intéressant de préciser les variations du nombre total d'œufs formés, que ceux-ci soient pondus ou non.

Or, le résultat est très net (cf. fig. 6) : un séjour des chrysalides à 4°C provoque un freinage considérable de l'ovogénèse, lorsque celles-ci sont de nouveau soumises à la température ordinaire. Si bien que le nombre d'œufs formés peut n'atteindre que le tiers ou le quart du nombre normal, observé chez les témoins.

Tableau VI

Données numériques sur les pontes et les œufs des papillons dont les chrysalides ont été traitées au froid.

Nombre de jours de froid	Numéro de séries	Nombre d'œufs pondus	Nombre d'œufs non pondus	Nombre total d'œufs formés	% d'œufs non pondus	Nombre d'œufs stériles	Nombre d'œufs embryonnés morts avant la diapause	% d'œufs stériles	Poids des œufs normaux par ponte en mg	Nombre d'œufs normaux par ponte	Poids moyen d'1 œuf en mg.
Témoins		632				32	5	5 %	434,7	596	0,735
7 jours	I	640	40	680	5,9	76	7	12	397,7	558	0,711
14 »	II	618	36	654	5,5	102	4	17	378,5	513	0,741
21 »	A III	555	49	604	8,1	184	7	33	246,2	364	0,685
28 »	IV	393	118	511	23,1	305	2	78	55,2	86	0,668
35 »	V	293	194	487	39,8	257	1	88	25,6	35	0,747
42 »	VI	100	289	389	74,3	103	1	97	0,8	1	0,643
7 jours	I	610	49	659	7,4	91	12	15	372,2	508	0,718
14 »	II	532	80	612	13,1	106	75	20	289,2	419	0,716
21 »	B III	349	164	513	32,0	114	12	33	157,4	224	0,714
28 »	IV	176	156	333	46,8	145	7	78	214,1	33	0,655
35 »	V	57	128	185	69,2	80	3	96	0	0	—
42 »	VI	5	116	121	95,9	13	1	93	0	0	—
7 jours	I	538	60	598	10,0	199	30	37	218,4	310	0,703
14 »	II	407	107	514	20,8	214	27	48	140,7	204	0,682
21 »	C III	239	187	425	44,0	212	30	77	22,9	33	0,723
28 »	IV	118	296	414	71,5	65	10	76	7,9	12	0,688
35 »	V	22	277	298	93,0	21	1	96	0	0	—
42 »	VI	0	236	236	100	0	0	—	0	0	—

D. — Fertilité

De plus, parmi les œufs pondus, un pourcentage non négligeable se révèle non fécondé ou non viable, c'est-à-dire que la mort intervient au bout de quelques heures ou quelques jours de développement. Comme les accouplements ont été réalisés entre mâles et femelles ayant subi le même traitement expérimental, il nous est impossible pour le moment de préciser si la stérilité est d'origine mâle ou femelle.

Il y a lieu de remarquer cependant, que la fertilité est un peu plus sensible à notre traitement que l'aptitude à la ponte (cf. tableau IV).

TROISIÈME PARTIE

CONCLUSIONS — DISCUSSION

Les effets d'un traitement au froid des chrysalides sur l'éclosion des papillons et sur les phénomènes de la reproduction sont indiscutables. Les différences entre deux lots expérimentaux successifs sont toujours grandes et ne révèlent aucune irrégularité qui pourrait gêner l'interprétation.

A propos des données numériques concernant les œufs (tableau IV), on peut cependant formuler quelques critiques. En effet, comme notre plan expérimental ne prévoyait pas d'étudier la part prise par chaque sexe dans les phénomènes observés (stérilité par exemple), les chiffres indiqués dans les premiers lots de chaque série sont un peu forts pour le pourcentage d'œufs pondus. Ces réserves n'enlèvent rien à la netteté de la tendance générale observée dans chaque série expérimentale pour les différents caractères.

L'ensemble des résultats rapportés prouve qu'après l'action du froid (4°C), *les divers phénomènes qui se déroulent pendant le stade nymphal ne reprennent plus leur cours normal*, lorsqu'ils sont soumis de nouveau aux conditions habituelles (22°C).

Les variations induites par l'action du froid ne cessent pas avec l'action du froid lui-même. Nous observons en particulier une sorte de *disjonction entre les différents processus* : la différenciation imaginale dans ses manifestations morphologiques reprend normalement ; au contraire les fonctions reproductrices sont particulièrement touchées. On en trouve de multiples preuves, depuis les modifications du comportement sexuel et du comportement de ponte, jusqu'à celles de l'ovogénèse proprement dite.

L'un des effets les plus intéressants est sans doute *la réduction d'acti-*

vité des tubes ovariens qui ne forment plus qu'un nombre d'œufs très inférieur à la normale : il y a avortement de plus de la moitié des ovocytes, dès que le traitement dépasse deux ou trois semaines. Mais ici encore les mécanismes en jeu font preuve d'une assez grand indépendance. Si les tubes ovariens dans leur ensemble, fonctionnent de façon réduite, les follicules existant fonctionnent de façon telle que les caractéristiques pondérales des œufs sont quasi normales ; c'est ce qui apparaît lorsqu'on effectue un contrôle sur les œufs embryonnés au cours de la diapause ; dans le plus mauvais des cas, le poids d'un œuf n'est que de 10 à 12 p. 100 inférieur au poids moyen d'un œuf témoin (cf. tableau IV). Nous avons d'ailleurs déjà souligné expérimentalement la stabilité de ce caractère (LEGAY et PASCAL, 1957).

Par certains côtés, cependant, le fonctionnement des follicules s'éloigne suffisamment de la normale, d'un point de vue plus qualitatif, pour qu'une fécondation ne soit pas toujours possible ultérieurement. Le pourcentage élevé d'œufs stériles dans les lots les plus sévèrement traités en témoigne.

On ne peut s'empêcher de comparer ces résultats à ceux obtenus chez cetains insectes par ablation des *corpora allata* : avortement des ovocytes et augmentation de la formation d'acide urique, en sont, en effet, les caractéristiques (L'HELIAS, 1957). Mais si la glande prothoracique est la source de l'hormone de différenciation imaginale (FUKUDA, 1941), les *corpora allata* sont précisément considérés chez le ver à soie comme étant sans action sur l'ovogénèse (BOUNHIOL, 1936).

Aussi, est-il difficile de dire pour le moment si le froid imposé aux chrysalides agit directement en induisant une sélection gamétique, ou s'il agit indirectement en modifiant l'activité d'une glande à sécrétion interne qui contrôlerait elle-même l'ovogénèse.

D'autres phénomènes, observés au cours de nos expériences peuvent être soulignés ; en particulier l'existence probable, en ce qui concerne les effets du froid sur la durée du développement nymphal, d'une période critique dans la durée du traitement lui-même. Les effets sont maximum pour une durée de 3 semaines environ ; au-dessous et au-dessus de ce temps, les effets sont moindres (fig. 1). On pourrait envisager l'explication de cette particularité par un phénomène d'accoutumance.

En résumé, nous avons montré qu'un séjour au froid des chrysalides, entraînait, *après retour à la température ordinaire* :

1° Une faible mortalité ;

2° Un allongement du stade nymphal qui n'excède pas 20 p. 100 ;

3° Des difficultés dans le déroulement de la mue imaginale ;

4° Des troubles dans le comportement (en particulier pour l'accouplement et la ponte) ;

5° Et surtout des modifications dans l'ovogénèse qui se traduisent par la diminution du nombre total d'œufs formés, du nombre total d'œufs pondus, et par l'augmentation de la stérilité.

Reçu pour publication le 15 *avril* 1959.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) Allegret (P.). — Étude des glandes séricigènes des larves de Lépidoptères. Leur rôle dans la physiologie du développement (thèse). *Ann. I. N. A.* (supplément), juillet 1956.
(2) Bounhiol (J.-J.). — Métamorphose après ablation des *corpora allata* chez le ver à soie, *Bombyx mori* L. *C. R. Acad. Sci.*, **203**, 388-9, 1936.
(3) Chiossi (E.). — L'influenza del freddo sulla durata della vita di farfalli di *Bombyx mori* e sulle ovificazione di femmine vergini. *La Seta*, **43**, 25, 6-8, 1937.
(4) Colasanti (G.). — Degli effetti dell'abbassamento della temperature sulla crisalide del *Bombyx mori*. *Acc. Medica di Roma*, 28 guigno 1879 (cité par Chiossi).
(5) Fujimoto (N.). — On the relation between the refrigeration of the female moth and the laying of eggs in the silk-worm. *J. of Seric. Sci., Jap.*, **25**, 2, 103-110, 1956.
(6) Fukuda (S.). — Le rôle de la glande prothoracique dans la différenciation imaginale chez le ver à soie. *Annot. Zool. Jap.*, **20**, 9-13, 1941.
(7) Kobayashi (M.) et Yamashita (Y.). — Effects of temperature and oxygen tension on the imaginal differenciation of the silkworm. *J. of Seric. Sci., Jap.*, **21**, 4, 274-78, 1957.
(8) Legay (J.-M.) et Pascal (M.). — Effets d'une castration unilatérale précoce chez le ver à soie sur la ponte de l'adulte. *C. R. Acad. Sci., Fr.*, **244**, 1831-33, 1957.
(9) L'Helias (C.). — Action du complexe rétrocérébral sur le métabolisme chez le phasme *Carausius morosus* (thèse *Bull. Biol. Fr. et Belg.*, suppl. 44, 96 p., 1957.
(10) Teodoro (G.). — Conservazione della fecondabilita nei *Bombyx mori* adulti maintenai a basse temperature. *La Seta*, **18**, 4, 143-44, 1940.

OBSERVATIONS SUR UN CHAMPIGNON MACULICOLE DES FEUILLES DE VIGNE

PAR

Mme R. GALZY

Station de Recherches viticoles.
C. R. A. du Midi, École nationale d'Agriculture, Montpellier.

La Station de Recherches viticoles de Montpellier a reçu en 1956 des échantillons de *Vitis vinifera* provenant d'Afghanistan. Ce matériel avait été récolté près de Koundouz au nord du massif de l'Hindou Kouch. L'un des cépages reçus (dénommé localement Hossein), atteint d'une maladie cryptogamique du type maculicole, a retenu notre attention. Les feuilles portaient de nombreuses taches brunes de forme arrondie, et d'aspect velouté à la face inférieure. Des dégâts de ce genre sont assez répandus dans des régions de climat chaud, comme la Californie, le Proche-Orient, l'Afrique du Nord et l'Afrique du Sud. Ils ont été attribués à divers champignons de la famille des Dématiacées ou de celle des Tubercularіacées par des auteurs tels que Von Thümen (1) et Viala (2) au siècle dernier. Plus récemment, Savulescu et Rayss (3) puis Du Plessis (4, 5) ont étudié des champignons parasites de la vigne qui appartiennent à ce groupe. Les travaux de Du Plessis ont beaucoup contribué à préciser la position systématique de ces champignons. Cependant, leur synonymie reste encore très confuse. Il a donc paru intéressant d'étudier le champignon qui nous est parvenu d'Afghanistan, et de le comparer à quelques-uns de ceux qui sont connus pour provoquer des dégâts semblables sur la vigne.

LES CARACTÈRES DE LA MALADIE

Les feuilles portent de nombreuses taches circulaires de 3 à 5 mm de diamètre, visibles sur les deux faces de la feuille. A la face supérieure, les taches brun foncé sont assez mal délimitées. Leur centre peut présenter une couleur grisâtre car les tissus sont morts et desséchés ; certaines taches sont entourées d'un anneau plus pâle.

A la face inférieure, les taches, beaucoup mieux délimitées (fig. 1 et 2), sont généralement bordées d'une ligne noire. Leur surface est verdâtre très sombre et d'aspect velouté sauf au centre où les tissus sont

FIG. 1. — Échantillon de Hossein. Face inférieure de la feuille

parfois desséchés et blanchis. Quelques-unes sont, comme à la face supérieure, entourées d'un cerne pâle.

LE CHAMPIGNON RESPONSABLE DE LA MALADIE

Des coupes pratiquées dans ces taches ont permis d'observer le mycélium et les fructifications du champignon. A la face inférieure de la feuille, au niveau des stomates sortent des touffes denses de conidiophores qui émergent d'une importante masse mycélienne stromatique. Cette formation occupe toute la chambre sous-stomatique puis se rétrécit au niveau de l'épiderme et s'épanouit à l'extérieur des tissus en un coussinet arrondi (fig. 3 et 4). Les cellules du parenchyme foliaire se trouvent

comprimées par cette masse mycélienne et l'ouverture du stomate est élargie.

Ce stroma a un diamètre de 30 à 70 μ, il est constitué de filaments assez fins et de couleur claire, très imbriqués les uns dans les autres. A la périphérie du stroma, le mycélium est souvent plus épais et plus foncé surtout lorsqu'il s'agit de formations âgées. Au niveau des cellules du

FIG. 2. — Détail des taches à la face inférieure de la feuille.

stomate des filaments mycéliens se disposent en un faisceau très compact et de couleur brune qui vient s'épanouir à la surface de l'épiderme. C'est sur ce coussin que les conidiophores se développent en formant un bouquet plus ou moins évasé. Ils sont noueux et cloisonnés mais non ramifiés. Leur longueur varie de 20 à 50 μ et leur diamètre est de l'ordre de 5 à 7 μ. Leur extrémité supérieure est souvent élargie en forme de massue.

C'est à ce niveau qu'apparaissent des conidies solitaires. Elles sont

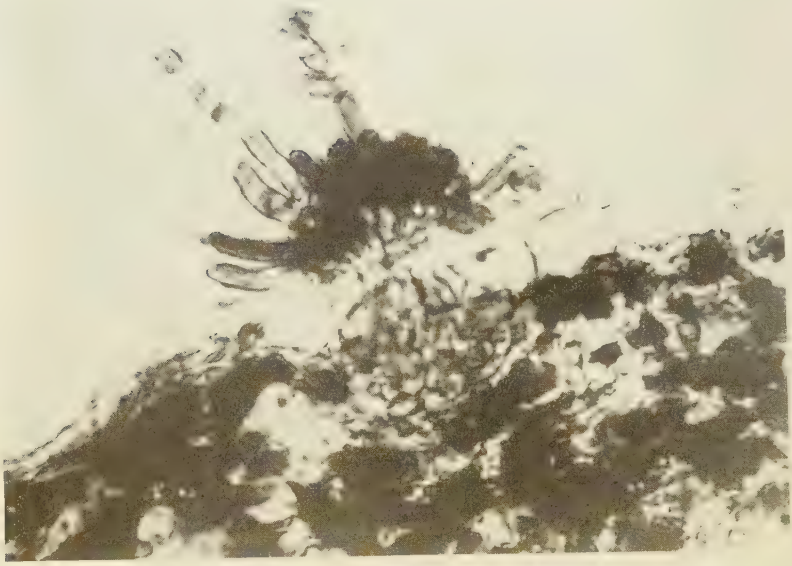


Fig. 3. — Fructification du Champignon.

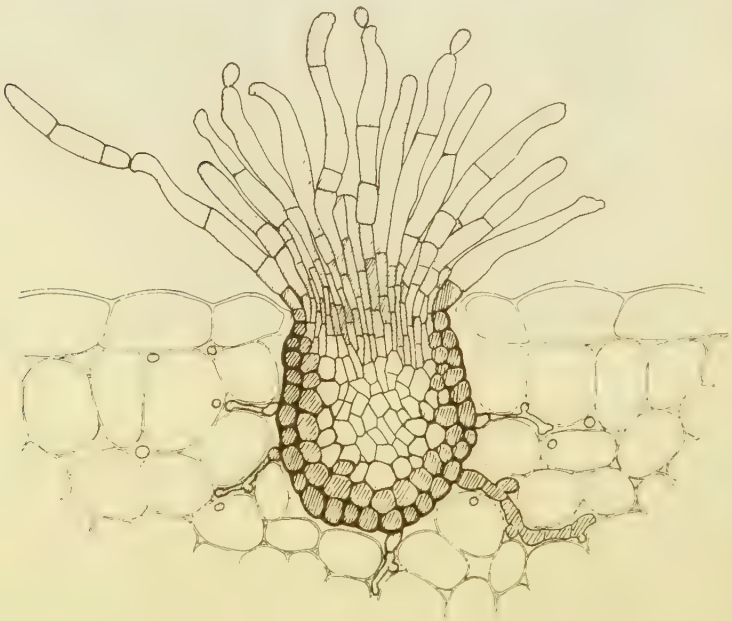


Fig. 4. — Un sporodochium au niveau de l'épiderme inférieur.

de couleur brun clair, d'abord monoloculaires et de forme ovale. Elles s'allongent ensuite pour devenir cylindriques ou parfois, un peu arquées. Elles acquièrent jusqu'à 5 cloisons (le plus souvent 1 ou 2) et sont légèrement rétrécies au niveau des cloisons (fig. 5). Leurs dimensions sont très

Fig. 5. — Mycélium et spores de culture.

variables : la longueur peut être comprise entre 15,5 et 65 µ et la largeur entre 4,6 et 9 µ ; les dimensions moyennes calculées sur 250 mesures sont : 35,6 et 6,5 µ.

CULTURE SUR MILIEU SYNTHÉTIQUE

Ce champignon a pu être cultivé assez facilement sur milieu synthétique. Des fragments de feuilles parasitées ont été désinfectés soit par le bichlorure de mercure à 1 p. 1000, soit par l'hypochlorite de calcium à 35 p. 1000. Ils ont été ensemencés sur un milieu contenant 2 p. 100 de glucose et 0,5 p. 100 de peptone.

Certains de ces fragments sont restés stériles et ont gardé leur aspect initial pendant 12 jours. Ce n'est qu'après ce délai que l'on a pu remarquer une boursouflure des tissus de la feuille. Petit à petit, les fragments se sont épaissis et transformés en une sorte de bouton hémisphérique d'aspect velouté gris verdâtre. Le champignon formait une masse dure, épaisse,

FIG. 6. — Culture sur milieu synthétique.

recouverte d'une poussière de spores. Les dimensions de la colonie n'augmentaient presque pas.

La croissance s'est révélée beaucoup plus rapide sur des milieux plus acides, moins riches en sucre, plus riches en sels minéraux (solution de Knop diluée de moitié) et contenant des vitamines (jus d'ananas à 1 p. 100 ou extrait de levure à 0,5 p. 100). Sur ce genre de milieu, les colonies atteignent en deux mois plus d'un centimètre de diamètre. Elles forment

de gros boutons dont la base est noire et largement enfoncée dans le milieu de la culture. La partie supérieure est en relief au-dessus du milieu. Elle est souvent plissée (fig. 6).

On trouve toujours dans la culture deux sortes de mycélium (fig. 5). Le premier est gros, de couleur brune, ses parois sont assez épaisses. Il est formé d'articles de forme très irrégulière. C'est aux extrémités de ce mycélium brun qu'apparaissent les spores à la surface de la colonie. Le

Fig. 7. — Apparition des premiers symptômes sur Listan infecté en serre.

deuxième type de mycélium est hyalin, très fin et de forme régulière. Il est toujours stérile.

Au bout d'un mois de culture, sur milieu sucré, la plupart des colonies présentent à leur sommet une sorte de duvet blanc qui peut faire penser à une contamination (fig. 6 tube de gauche). Il s'agit d'un fin mycélium hyalin, stérile qui peut finir par recouvrir toute la colonie. Ce phénomène ressemble au pléomorphisme des champignons dermatophytes décrit par Sabouraud. On parvient facilement à l'éviter en utilisant un milieu non sucré, dit « milieu de conservation de Sabouraud », qui ne contient que de la gélose et 3 p. 100 de peptone. Westerdijk et Diddens (6) conseillent également d'éviter le vieillissement des cultures

sur milieu trop riche, de les conserver à des températures peu élevées, et de choisir de préférence des milieux naturels et peu concentrés.

Fig. 8. — Chasselas infecté en serre.

DÉVELOPPEMENT DE LA MALADIE

Il a été possible d'inoculer ce champignon à divers cépages de *Vitis vinifera*, et de le réisoler en culture pure. Les expériences de contamination ont été réalisées en serre sur des boutures des cépages suivants : *Sultanine*, *Cinsaut*, *Chasselas blanc*, *Aramon*, *Clairette*, *Grenache noir*, *Terret gris*, *Listan*.

Sur chaque bouture, un rameau en pleine croissance a été choisi. On a pulvérisé à la face inférieure des feuilles une suspension de spores de culture. Le rameau ainsi inoculé a été enfermé dans une cloche de

verre contenant un peu d'eau de façon à saturer l'atmosphère d'humidité. La cloche de verre doit être maintenue au moins pendant 4 jours pour que l'infection puisse avoir lieu.

L'infection a eu lieu pour tous les cépages, sauf pour la *Clairette* dont les feuilles sont très pubescentes. Les premiers symptômes sont apparus 6 à 8 jours après l'inoculation. Les feuilles les plus atteintes

Fig. 9. — Listan infecté en serre.

sont toujours des feuilles jeunes. Elles sont d'abord crispées (fig. 7) et présentent à la face supérieure de petites taches jaune pâle et brillantes qui font penser aux « taches d'huile » qui apparaissent sur les feuilles de vigne où se développe le mildiou. A ce stade, il est facile d'observer le mycélium du champignon sur des coupes de feuilles colorées au bleu coton, mais on ne voit aucune fructification.

Par la suite, les zones décolorées s'agrandissent et deviennent cir-

FIG. 10. — Coupe d'une feuille de Listan infectée en serre.
Formation de masses mycéliennes sous-épidermiques.

FIG. 11. — Coupe d'une feuille de Listan infectée en serre.
Apparition des conédiophores.

culaires ; elles peuvent avoir jusqu'à 1 cm de diamètre ; à leur centre apparaît une petite nécrose annulaire mesurant 1 à 2 mm de diamètre, visible sur les deux faces de la feuille (fig. 8). Si l'on effectue alors des coupes de la feuille, on peut observer sous l'épiderme inférieur, au niveau des stomates, d'importants amas de mycélium (fig. 10). Ces sortes de sporodochium en cours de formation sont recouverts par les cellules épidermiques ; les conidiophores du champignon ne sont pas encore apparus ou, du moins, ils sont très rares (fig. 11). On peut voir également sur la figure 11, que le mycélium du champignon a envahi tous les tissus de la feuille.

L'atmosphère sèche qui régnait dans la serre ne permettait pas une meilleure fructification du champignon et le parasite restait indéfiniment à ce stade de son développement. Petit à petit, les feuilles se desséchaient et tombaient. Pour obtenir la fructification du champignon, il a fallu remettre les rameaux infectés en chambre humide pendant 1 ou 2 jours. Des touffes de conidiophores sont alors apparues à la face inférieure des feuilles. L'aspect de ces conidiophores est très variable. Si l'humidité est maintenue plus de deux jours, ils peuvent être longs et flexueux, sinon ils sont plus courts et plus rigides.

La dimension finale des taches paraît dépendre du cépage. Elles ont en général, un diamètre de 4 ou 5 mm (fig. 9). Mais sur le Chasselas, nous avons obtenu de toutes petites taches nécrotiques de 2 mm. D'autre part, l'aspect des taches est fonction de l'intensité de la contamination. Sur la *Sultanine* qui est l'un des cépages sur lesquels le champignon se développe le plus facilement, les taches sont en général assez petites, mais si la contamination est massive, les taches confluent rapidement provoquant la dessiccation du limbe et la chute rapide de la feuille.

POSITION SYSTÉMATIQUE

L'aspect macroscopique des dégâts aussi bien que certaines caractéristiques du champignon (spores brunes et cloisonnées, conidiophores en touffes), pourraient faire penser qu'il s'agit d'un Cercospora, d'autant plus qu'un certain nombre d'espèces appartenant à ce genre ont été décrites sur la vigne par Savulescu et Rayss (3). Mais aucun de ces Cercospora ne présente des spores ayant exactement les mêmes dimensions que celles du champignon étudié. D'ailleurs, d'après Clements et Shear (7), le genre Cercospora doit être considéré comme ayant des spores filiformes (Scolécosporées), ce type de spores étant caractérisé par un rapport longueur largeur supérieur à 10 ou 20. Or, chez le champignon qui nous intéresse, le rapport longueur largeur varie de 2,7 à 8. Il ne s'agit donc pas d'un Cercospora. Ce champignon fait partie des phragmosporées, de couleur brune ou phaeophragmiées.

La question se pose de savoir si l'on doit considérer la masse mycélienne dense que l'on observe sous les fructifications comme un véritable sporodochium, ou simplement comme la base d'un bouquet de conidiophores. Dans le premier cas, le champignon sera rangé dans la famille des Tuberculariacées et appartiendra au genre Exosporium. Dans le deuxième cas, on devra le considérer comme un Cercosporidium de la famille des Dématiacées.

L'examen méthodique du champignon aux divers stades de son développement semble bien indiquer que l'on a affaire à un véritable sporodochium.

D'autre part, Du Plessis a décrit un *Exosporium* parasite de la vigne *Exosporium sultanae* Du Plessis. Ce dernier champignon observé dans les vignobles de *Sultanine* d'Afrique du Sud, présente de grandes analogies avec celui qui nous est parvenu d'Afghanistan. Les spores ont exactement le même aspect et leurs dimensions sont extrêmement voisines ainsi que le montre le tableau I.

Tableau I

Comparaison des caractères biométriques des champignons cités.

	longueur des spores	largeur de spores	Rapport Long./largeur	Dimensions moyennes	Nombre de cloisons	Longueur de conidiophores	Dimension du stroma
Exosporium Sultanae..	10,8 – 61,2 µ	5 – 10,1 µ	3 à 7	31,8 × 7,3	0 à 4	16 – 29,2	30 – 120 µ
Echantillon d'Afghanistan	15,5 – 65 µ	4,6 – 9 µ	2,7 à 8	35,6 × 6,5	0 à 5	20 – 50 µ	30 – 70 µ
S. Fuckellii (échantillon Viala)	20 – 56 µ	4,6 – 9,3 µ	2,8 à 8	34,3 × 6,6	0 à 5		28 – 124 µ
Stigmina Esfandiarii d'après Petrak (8)..	12 – 38 µ	5,9 – 6,7			0 ou plusieurs	12 – 25 µ	40 – 70 µ

Les spores d'*Exosporium sultanae* peuvent avoir de 0 à 4 cloisons. Du Plessis indique le pourcentage de spores de chaque type (0, 1, 2, 3 ou 4 cloisons) rencontré sur des feuilles récoltées en hiver. Une répartition analogue s'observe pour le champignon d'Afghanistan cultivé sur milieu synthétique (voir tableau II). D'après Du Plessis, les spores apparues en été sur de jeunes feuilles ne présentent le plus souvent qu'une seule cloison. Nous avons également fait cette observation. De même, Du Plessis indique que la longueur et l'aspect des conidiophores varient avec l'âge des feuilles et les conditions de milieu. Cependant, des conidiophores d'*Exosporium sultanae* paraissent un peu plus courts que ceux du champignon étudié.

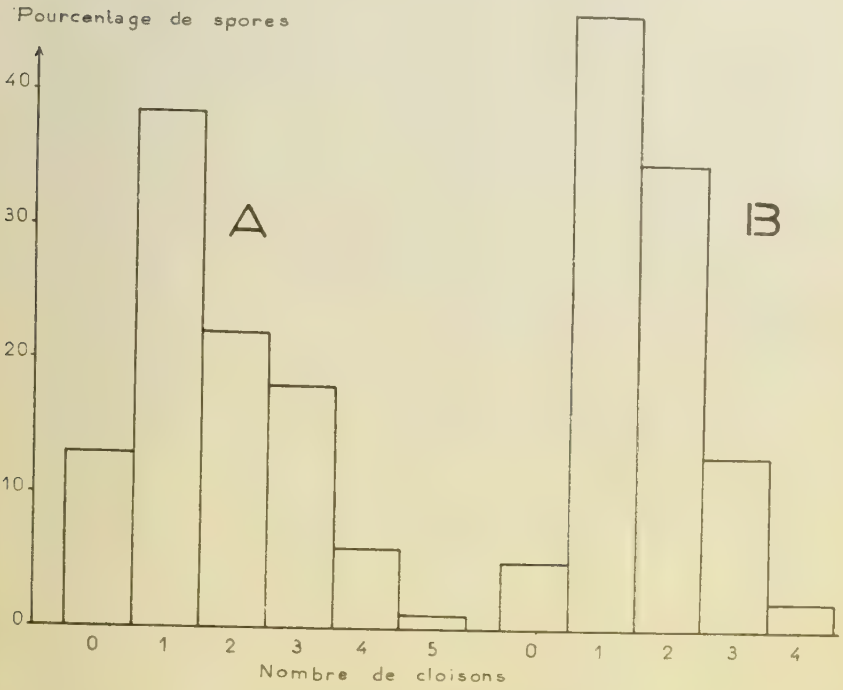
Les dimensions du sporodochium d'*Exosporium sultanae* sont légèrement supérieures à celles que nous avons observées. Par contre, le com-

portement des deux champignons sur milieu synthétique est absolument identique.

La principale différence entre les deux champignons réside dans leur spécificité parasitaire. Du Plessis considère *Exosporium sultanae* comme strictement inféodé à la sultanine. Il déclare « n'avoir pu découvrir en aucun cas des signes de contamination » sur les autres variétés de

Tableau II

Pourcentage de spores à 0, 1, 2, 3 *ou* 4 *cloisons.*



A. — Champignon d'Afghanistan cultivé sur milieu synthétique.
B. — *Exosporium sultanae* se développant sur Sultanine.

Vitis vinifera même lorsqu'elles voisinent avec des souches de Sultanine malades. L'auteur n'indique pas s'il a tenté des infections artificielles sur les cépages autres que la Sultanine.

Dans ces conditions, il paraît légitime de considérer ces deux champignons comme appartenant à la même espèce *Exosporium Sultanae* Du Plessis. Il se pourrait que la souche étudiée par Du Plessis soit plus strictement inféodée à la Sultanine que celle qui nous est parvenue

d'Afghanistan. On aurait affaire, en quelque sorte, à deux races du même champignon.

Un autre Exosporium été décrit sur la vigne ; *Exosporium Badhami* Awd qui est synonyme de *Septoria Badhami*. D'après Von Thumen (1), ce champignon provoque, à la face supérieure de la feuille, la formation de taches bien délimitées de couleur brun-violet, dont le centre est plus clair. A la face inférieure, les taches sont plus petites, irrégulières, de couleur brune et entourées d'un anneau clair. D'après cet auteur, *Exosporium Badhami* formerait des pycnides à la face inférieure des feuilles, dans la partie centrale des taches. Les spores de ce champignon sont pédonculées, pluricellulaires et mesurent de 16 à 18 μ de longueur sur 6 à 8 μ de largeur. Saccardo met en doute la description donnée par Von Thumen et se demande si ce champignon n'appartient pas au genre Cercospora. On pourrait supposer que les sortes de sclérotes que forme parfois en hiver le stroma conidifère des *Cercospora*, ont pu être confondus avec des pycnides. De toutes façons, ce champignon diffère totalement de celui que nous avons observé par la forme et la dimension des spores.

En 1950, F. Petrak (8) décrivait sur des échantillons récoltés en Iran, un nouveau parasite de la vigne auquel il donnait le nom de *Stigmina Esfandiarii*. L'auteur donne de cette espèce une description détaillée qui correspond assez exactement au champignon étudié ici, à la fois en ce qui concerne la structure du stroma conidifère, la disposition des conidiophores et l'aspect des conidies. On remarque cependant deux différences entre *S. Esfandiarii* et le champignon parvenu d'Afghanistan.

1° D'après Petrak, les conidiophores de *Stigmina Esfandiarii* ne sont pas cloisonnés.

2° Les dimensions des conidies sont les suivantes : 12-33×5-9 μ.

En 1956, Petrak (9) a publié une courte note où il reprend la description de *S. Esfandiarii* et le compare à *Cercospora Roesleri*. Il conclut finalement qu'il est assez difficile de distinguer ces deux espèces.

De toutes façons, on doit remarquer que la dénomination *Stigmina Esfandiarii* n'est probablement pas correcte ; en effet, le genre *Stigmina* est caractérisé par des fructifications du type phialospores.

D'après Hughes (10), chez le genre Stigmina, « Les cellules sporogènes sont brunes, de forme cylindro-ovale, plus larges au sommet qu'à la base. A la maturité, leur sommet est entouré de collerettes dentées qui peuvent être au nombre de six au maximum. Ces lignes successives sont légèrement plus foncées que le reste de la cellule, elles correspondent à l'emplacement où une jeune conidie s'est formée à travers la cicatrice laissée par la chute de la conidie précédente ».

Les conidies se forment par gonflement et proliférations successives du sommet de la cellule sporogène, ce sont des phialospores. Ce mode de fructification a été décrit par G. Arnaud et J. Barthelet (11) sous

le nom de stérigmate à collerette. Par contre, dans le genre *Exosporium* les conidies se forment à travers un pore, au sommet du conidiophore, si bien que la cicatrice laissée par la conidie a la forme d'un point et non celle d'un anneau comme on l'observe chez le genre *Stigmina*. Les dessins de PETRAK ne permettent pas de penser que le champignon décrit ait des fructifications du type phialospores.

On peut donc se demander si ce champignon ne devrait pas être rattaché soit au genre *Cercospora* comme le suggère l'auteur, soit au genre *Exosporium*.

Un autre champignon parasite de la vigne *Septosporium Fückelii Thüm* (1) semble présenter des analogies avec celui que nous étudions, VIALA (2) l'a observé en Californie ; il en donne la description suivante :

« Les taches sont diffuses sur les bords. Le parenchyme altéré présente à la face supérieure, les mêmes phases de décoloration que sous l'effet du mildiou, il est d'abord jaunâtre puis jaune brun, et définitivement brun. Les filaments fructifères sortent en épaisses gerbes de stomates dont ils compriment les cellules environnantes. Ces filaments fructifères sont assez courts (50 à 80 μ, de longueur), droits ou légèrement flexueux. De leur sommet se détachent des spores rarement simples, le plus souvent cloisonnées. Le plus grand nombre a de 3 à 7 cloisons. Leur longueur varie de 30 à 60 μ ».

Les spores de *Septosporium Fückelii* seraient donc différentes de celles de notre champignon à la fois par leurs dimensions et leur nombre de cloisons. Cependant, VIALA présente deux dessins de spores (l'un original, l'autre d'après L. RAVAZ) qui rappellent beaucoup l'aspect des spores d'*Exosporium Sultanae*. Les spores représentées ont toutes de 0 à 4 cloisons et leur longueur varie entre 8 et 50 μ ce qui laisse supposer que les spores ayant jusqu'à 7 cloisons sont exceptionnelles.

Nous avons pu observer des échantillons d'herbier récoltés par VIALA en Californie en 1887 et conservés au laboratoire de Recherches Viticoles de Montpellier, sous le nom de *Septosporium Fückelii*.

L'aspect des dégâts est identique à ce que nous avons pu voir sur les feuilles de Hossein parvenues d'Afghanistan. Les conidiophores du champignon émergent en touffe d'un stroma important (28 à 124 μ de diamètre). Nous avons pu mesurer quelques spores (27) et leurs dimensions moyennes se sont révélées extrêmement voisines de celles d'*Exosporium sultanae* (34,3 × 6,6 μ). Ces deux champignons semblent donc très proches l'un de l'autre. D'autre part, la dénomination *Septosporium Fückelii* ne paraît pas correcte puisque le genre *Septosporium* est caractérisé par des spores muriformes.

D'après SACCARDO et d'après LINDAU (12), *Septosporium Fuckelii* serait synonyme de :

— *Cercospora röesleri* Catt,
— *Cladosporium röesleri* Catt,
— *Cladosporium pestis* Thüm.

Mais Du Plessis (4), estime que *S. Fuckelii* et *Cercospora röesleri* diffèrent par la forme et par la dimension des spores ainsi que par leur mode de cloisonnement. Chupp (13) indique, d'autre part, que ces champignons ne doivent pas être rattachés au genre *Cladosporium* à cause de leurs conidiophores courts, réunis en bouquets, et de leurs spores à nombreuses cloisons. Pour cet auteur, ce champignon n'appartiendrait pas non plus au genre *Cercospora*, qui est caractérisé par des spores plus effilées, à parois plus minces et moins colorées. D'après Chupp, *Cercospora röesleri* serait extrêmement voisin d'un autre parasite de la vigne décrit par Ellis et Galloway (14) sur *Vitis Californica* sous le nom de *Septosporium heterosporum*. Ce rapprochement peut surprendre puisque d'après le dessin donné par Ellis et Galloway, les spores de ce champignon, très resserrées au niveau des cloisons, sont faites d'articles parfois cloisonnés longitudinalement. Ce sont presque des spores muriformes.

On doit signaler ici que dans sa monographie du genre *Cercospora*, Chupp discute non seulement la position systématique de *Cercospora röesleri*, mais aussi celle des cinq autres *Cercospora* signalés sur Vitis en Palestine par Savulescu et Rayss (3). D'après Chupp, quatre de ces espèces doivent être séparées du genre *Cercospora* à cause de leurs spores trop larges, à parois trop épaisses et à cloisons trop peu nombreuses (1 à 3). Ce sont :

— *Cercospora röesleri* (Cattan), Saccardo, (déjà cité).
— *Cercospora Leoni* Sav. et Rayss.
— *Cercospora Coryneoïdes* Sav. et Rayss, qui serait synonyme de *C. judaica* Rayss.
— *Cercospora vitiphylla* (Speschnew), Barbarine.

Chupp estime que ces quatres espèces pourraient être identiques à *Septosporium heterosporum*.

Pour *Cercospora Vitis* (Lev.) Sacc. Chupp donne une longue liste de synonymes :

— *Septonema vitis* Lev. 1848.
— *Cladosporium viticolum* CS. 1854.
— *Cercospora viticola* (Ces.) Sacc. 1886.
— *Helminthosporium vitis* (Sacc.) Pirotta. 1889.
— *Pseudocercospora vitis* (Lev.) Spegazzini 1910.
— *Cercospora vitis* var. *rupestris* Ciferri 1922.

D'après Lindau (12), on doit encore ajouter à cette liste :

— *Cladosporium vitis* Sacc.
— *Graphium clavisporum* Berk et Cooke.
— *Isariopsis clavispora* Sacc.

Chupp estime que cette espèce non plus ne doit pas être classée parmi les *Cercospora*. Les conidies présentent en effet des parois trop épaisses et trop colorées, ainsi qu'une forme particulière en bec, rappelant d'après lui la forme générale des spores d'*Alternaria*. Il admet pour ce champignon la dénomination *Pseudocercospora vitis*, proposée par Spegazzini.

Cependant, les spores de *Cercospora vitis* effilées à leur partie supérieure se rapprochent un peu des spores typiques du genre *Cercospora*. Par contre, les conidiophores très longs, disposés en un bouquet étroit rappelant une corémie, justifieraient peut-être de placer cette espèce dans le genre *Isariopsis*.

Enfin, d'après Chupp, *Cercospora Sessilis* Sorokine est identique à *Cercospora vulpinae* Ellis et Kellerman décrit en 1887, et qui devrait bénéficier de l'antériorité.

CONCLUSION

Les caractères du champignon que nous venons d'étudier semblent correspondre à ceux d'*Exosporium sultanae* décrit par Du Plessis, en Afrique du Sud. Nous relevons donc une nouvelle Station (Afghanistan) pour cette maladie encore peu connue et localisée dans des régions à climat chaud. Il est à noter que Du Plessis n'avait constaté la présence du champignon que sur Sultanine, en plein champ, alors que nous avons pu inoculer, en serre, un certain nombre de variétés, ce qui semblerait indiquer l'existence de races.

Petrak a décrit en 1950 sous le nom de *Stigmina Esfandiarii* un nouveau parasite de la vigne qui ne paraît pas très différent d'*Exosporium sultanae*.

D'autre part, la comparaison d'*Exosporium sultanae* Du Plessis et de *Septosporium Fückelii* décrit en 1878 par Von Thumen a permis de mettre en évidence de grandes analogies entre ces deux champignons.

D'après différents auteurs, cette dernière espèce (*S. Fückelii*) serait à rapprocher des champignons suivants : *Cercospora Leoni*, *C. Corynoïdes*, *C. Vitiphylla* et *C. röesleri*. Enfin, Chupp considère ces quatre *Cercospora* comme étant identiques à *Septosporium heterosporum*.

Il semble bien que les multiples champignons de la famille des Dématiacées ou des Tuberculariacées qui ont été décrits sur la vigne pourraient se ramener finalement à un petit nombre d'espèces. Une grande confusion règne encore dans la classification de ces champignons. Cela peut s'expliquer sans doute par une certaine variabilité de ces espèces en fonction des conditions de milieu.

Reçu pour publication le 6 *mai* 1959.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) Von Thumen (F.). — Die Pilze des Weinstockes, 225 p W. Braumüler édit. 1878.
(2) Viala (P.). — Les maladies de la vigne, 595 p. Masson édit. 1893.
(3) Savulescu (Tr.) et Rayss (T.). — Les espèces de Cercospora parasites des feuilles de vigne en Palestine. *Revue de Path. végét.* XXII-3, 222, 241, 1935.
(4) Du Plessis (S. J.). — Blaarvleksiekte van Wingerd vercorsaak deur *Isariopis Fückelii* (Thum.) Du P. *Ann. Univ. Stell.* Série A, nº 1, 1, 26, 1942.
(5) Du Plessis (S. J.). — Die Voorkoms en Bestryding van Roetdow op Sultanastokke verrorsaak deur *Exosporium Sultanae* nov. Spec. *Ann. Univ. Stell.* Série A, nº 5 ; 1, 32, 1946.
(6) Westerdijk (J.) et Diddens (H. A.). — Variations occuring in type culture collection, 3 *rd Int. Cong. Microb.* New-York. *Rep. of Proc.*, 204, 205.
(7) Clements (F. E.) et Shear (C. L.). — The Genera of fungi. 496 p, Hafner Publishing Co. New-York, 1954.
(8) Petrak (J.). — *Stigmina esfandiarii* Nov. species. *Sydowia Annales mycologici*, **4**, 35, 1950.
(9) Petrak (J.). — *Stigmina esfandiarii* Petrak. *Sydowia Annales mycologici*, **10**, 16, 1956.
(10) Hughes (S. J.). — Stigmina. *Mycological Papers* nº 49 Mycological. Institute Kew, Surrey, 1952.
(11) Arnaud (G.) et Barthelet (J.). — Les microconidies dans le genre Sclerotinia. *Bull. Soc. Mycol. France*, 52,-69-79, 1936.
(12) Lindau (G.). — L. Rabenhorst's. Kryptogamen Flora. T. IX. Fungi imperfecti. 1910.
(13) Chupp (C.). — A monograph of the fungus genus Cercospora. Ithaca ed. New-York, 1953.
(14) Ellis (J. B.) et Galloway (B. T.). — New Western Fungi. *The journal of mycology*, 5. p. 65, 1889.

NÉCROSES DE RACINES, POURRITURES DE TIGES ET VERSE PARASITAIRE DU MAIS

PAR

C. M. MESSIAEN, R. LAFON et P. MOLOT

Station de Pathologie végétale, C. R. A. du Sud-Ouest, Pont-de-la-Maye.

PLAN DU MÉMOIRE

I. — Introduction.

II. — Les voies de pénétration dans les tiges.

III. — Nécroses des racines.

IV. — Inoculations artificielles.

A. — Sur racines in vitro.
B. — Par voie aérienne.
C. — A l'intérieur des tiges.
D. — Sur racines en plein champ.
E. — Conclusions des essais d'inoculation.

V. — Description mycologique des divers champignons pathogènes.

VI. — La résistance et sa nature.

A. — Physiologie du maïs en voie de maturation.
B. — Études de corrélations.
C. — Nature de la résistance.
D. — Conseils pratiques pour la sélection.

Bibliographie.

Résumé.

I. — INTRODUCTION

L'envahissement des tiges de maïs en voie de maturation par divers parasites cryptogamiques est un des principaux problèmes pathologiques posés par cette plante.

Le sujet a été étudié aux États-Unis depuis de nombreuses années. Parmi les travaux les plus récents, celui de B. KHOEHLER et G. H. BOEWE (1) nous donne une idée des organismes que l'on peut rencontrer sur les tiges malades : *Diplodia Zeae* (Schw.) Lev., *Gibberella Zeae* (Schw.) Petch., *Fusarium moniliforme* Sheldon, *Nigrospora spp.*, *Macrophomina*

Phaseoli (Maubl.) Ashby, *Helminthosporium spp.*, *Phaeocytosporella Zeae* Stout, etc.

En France, et plus particulièrement dans les régions traditionnellement maïsicoles du Sud-Ouest, c'est depuis 1945 que les investigations de Mlle GAUDINEAU ont mis en évidence l'importance des pourritures de tiges. En 1949 (2), elle signalait la présence de *Gibberella Zeae* et *Macrophomina phaseoli*. En 1954, était mis en évidence *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils (3). Depuis ont été trouvés *Phaeocytosporella Zeae* Stout, et un certain nombre d'autres espèces qui font l'objet du présent travail.

II. — LES VOIES DE PÉNÉTRATION DANS LES TIGES

Si l'Anthracnose due à *Colletotrichum graminicola* est une maladie dont l'évolution a lieu au-dessus du niveau du sol, débutant par des taches foliaires discrètes, puis envahissant les gaines et les tiges (1) le simple examen de la plupart des pieds de maïs envahis par *Gibberella Zeae*, *Macrophomina phaseoli* ou *Phaeocytosporella Zeae* semble indiquer que l'infection vient du sol par l'intermédiaire des racines. L'inoculation directe des tiges par *Gibberella Zeae* est possible, mais produit des symptômes tout différents de ceux de la contamination spontanée.

Une troisième voie importante doit être signalée. Elle est constituée par les trous et les galeries pratiqués dans les tiges par les chenilles de Pyrale (*Pyrausta nubilalis* Hbn.) et de Sésamie (*Sesamia nonagrioides* Lef.). L'invasion par *Colletotrichum graminocola* ou *Gibberella Zeae* emprunte souvent cette voie.

En 1955, une expérience simple nous a montré l'importance que pouvaient avoir les trous pratiqués dans les tiges. Il s'agissait de témoins troués, mais non inoculés, d'un essai d'infection par *G. Zeae* au moyen de grains d'orge insérés dans les tiges. Le simple fait d'avoir pratiqué ce trou a considérablement augmenté la proportion de tiges atteintes par l'Anthracnose.

TABLEAU I

Variétés	% de tiges atteintes	
	Tiges intactes	Tiges trouées
W 355	0	3
M 706	0	36
Blanc des Landes	12	46

(1) Les mêmes considérations s'appliquent à *Helminthosporium carbonum* décrit plus loin.

III. — NÉCROSES DES RACINES

Admettre que les racines sont une des voies principales de pénétration dans les tiges pose la question du parasite primaire.

La littérature étrangère nous propose un grand nombre de champignons du sol comme agents primaires de la nécrose des racines : *Pythium graminicola* Subr., *Pythium de Baryanum* Hesse, *Phialophora radicicola* Cain, *Pyrenochaeta terrestris*, *Helminthosporium spp.*, *Rhizoctonia Solani* Kuhn. (4-5-6-7-8). Il est curieux de constater qu'aucun de ces organismes n'apparaît en fin de saison comme agent important de pourriture des tiges.

Aucune méthode d'isolement n'est parfaite, et nous avons longtemps tatonné avant de choisir définitivement un milieu de culture et un mode d'ensemencement. Nous nous sommes finalement arrêtés aux méthodes suivantes :

Aussitôt après l'arrachage des pieds de maïs, nous lavons deux heures à grande eau les morceaux de racines fines, dans un tube garni au fond d'une mousseline et accroché au robinet. Ils sont ensuite ensemencés en tubes. Pour les grosses racines coronaires, après les avoir lavées et séchées, nous prélevons aseptiquement des fragments de cylindre central. Pour les tiges, après avoir désinfecté la surface à l'alcool, nous ensemençons des fragments de sclérenchyme, de fibres ou de moëlle. Nous n'avons pas utilisé de désinfectants comme $HgCl_2$ ou les hypochlorites, craignant de faire disparaître certaines espèces plus fragiles. Nous avons d'abord utilisé, avec un certain succès, un milieu d'isolement à base de prunes. Cependant, il était difficile de le normaliser, le degré de cuisson, la richesse en sucre, l'acidité et la coloration de divers lots de pruneaux d'Agen n'étant pas constants. Nous avons donc cherché à réaliser un milieu synthétique présentant les mêmes avantages (clarté, acidité) et permettant de plus la croissance de *Pythium graminicola* et *Phacocytosporella Zeae* qui poussaient très mal sur le milieu à la prune. Nous nous sommes fixés à la formule suivante (pour un litre) :

$(NO_3)^2Ca$	1 gr.
NO_3K	0,25 gr.
SO_4Mg	0,25 gr.
PO_4KH_2	0,125 gr.
PO_4K_2H	0,125 gr.
Acide citrique	50 mg.
Acide malique	50 mg.
Saccharose	5 gr.
Extrait de Malt cristallisé	1 gr.
Gélose	20 gr.

Les isolements de 1956 et 1957 nous avaient permis d'identifier : *Pyrenochaeta terrestris*, *Phialophora radicicola*, *Pythium de Baryanum*, *Pythium graminicola*, *Rhizoctonia Solani*.

En 1958, nous avons pratiqué des isolements en série à St-Martin-de-Hinx (Landes), Montpellier (Hérault) et Versailles (Seine-et-Oise). Nous pouvons résumer ainsi les résultats :

Tableau II

	St-Martin-de-Hinx (sur M 706)	Monpellier (sur A 34)	Versailles (sur W 240)
Champignons dominant sur racines en début de maturation	*Pyrenochaeta* *Pythium graminicola* *Phialophora*	*Rhizoctonia* *Pythium* spp.	*Pythium de Baryanum*
Champignons dominant sur racines en fin de de maturation	*Gibberella Zeae* *Phaeocytosporella* *Phialophora* *Pyrenochaeta*	*Pyrenochaeta*	*Fusarium culmorum*
Champignons dominant sur les tiges malades	*Gibberella Zeae* *Colletotrichum* *Phaeocytosporella* *Macrophomina*	*Gibberella* *Macrophomina*	*Fusarium culmorum*

On voit que, suivant les régions, la répartition n'est pas la même. De toutes façons, on peut distinguer une flore primaire (*Pythium spp.*, *Pyrenochaeta*, *Phialophora*, *Rhizoctonia*), qui ne dépasse pas les racines, et des envahisseurs rapides (*Gibberella*, *Colletotrichum*, *Phaeocytosporella*, *Macrophomina*) qui pénètrent dans les tiges en fin de maturation. Quelle est la virulence respective de ces parasites ? Seules des inoculations artificielles peuvent nous l'indiquer.

IV. — INOCULATIONS ARTIFICIELLES

A. — Inoculations sur racines in vitro

Désirant mettre en présence dans des conditions aseptiques des racines de maïs et les souches provenant de nos isolements, nous avons adopté comme premier test des champignons isolés sur racines la méthode suivante :

Sur des tubes de solution de Knop gélosée inclinés horizontalement (méthode du double bouchon de Gautheret), nous ensemençons au fond du tube le champignon à essayer, et en haut un grain de maïs désinfecté par trempage à alcool (une minute), puis dans l'hypochlorite de calcium 10 p. 100 (trois heures) et lavé à l'eau stérile.

Si on a la précaution de conserver les tubes à l'obscurité les six premiers jours, grâce à l'élongation du mésocotyle, le coléoptile passe entre le coton et la paroi du tube. Les premières feuilles s'épanouissent ainsi librement et, grâce à un éclairement d'appoint, on obtient des plantules normales, dont les racines aseptiques descendent jusqu'au fond du tube

et y rencontrent le champignon. Celui-ci n'a sur la gélose non sucrée qu'un développement très faible (fig. 1). On entoure le tube de papier noir pour maintenir les racines à l'obscurité.

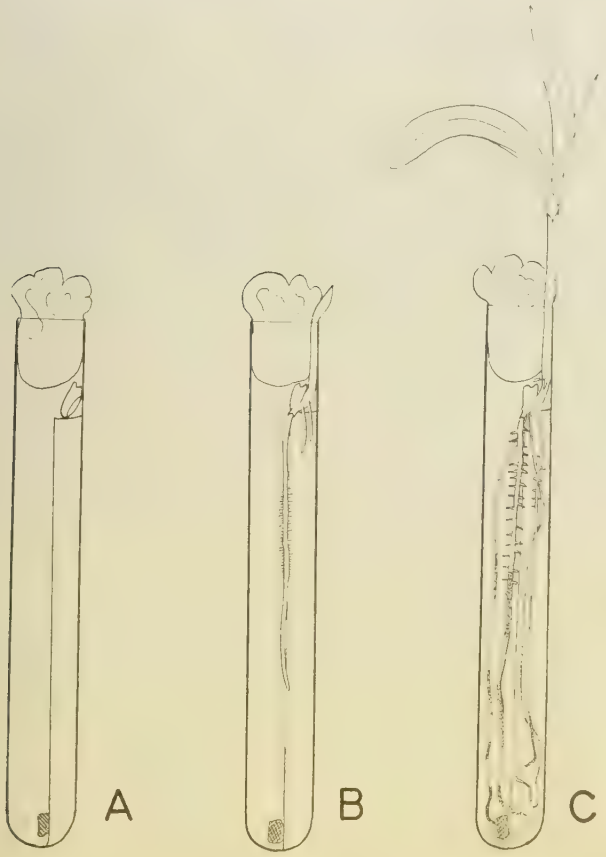


Fig. 1. — Essai de virulence sur racines *in vitro* : A : tube ensemencé, B : au bout de six jours, C : au bout de quinze jours.

On note au bout de combien de jours les nécroses apparaissent et l'étendue de celles-ci à la fin de l'expérience qui dure au total trois semaines. Ces essais ont été réalisés à la température de 23°C. Les champignons que nous avons soumis à ce premier test peuvent être classés en cinq grandes catégories :

Type 1 : racines rapidement attaquées en un point quelconque, le passage d'une cellule à l'autre se faisant sans réaction particulière (fig. 2-3).

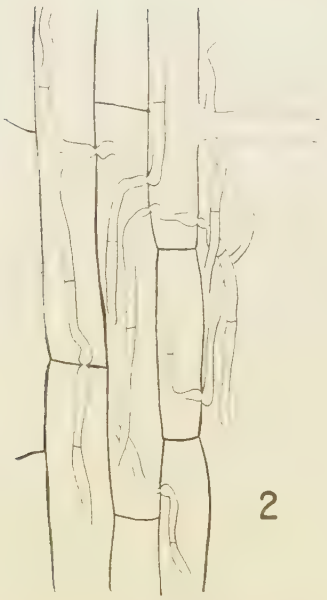


FIG. 2. — Coupe longitudinale de racine de Maïs attaquée par *Gibberella Zeae*.

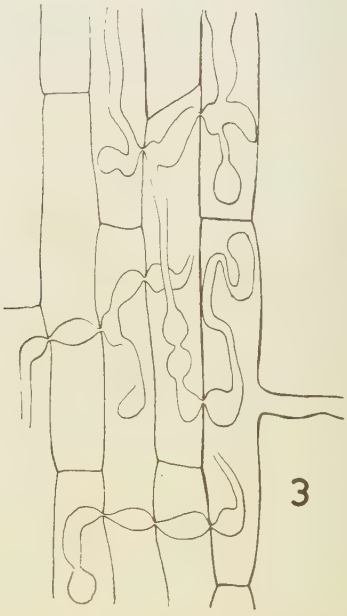


FIG. 3. — Coupe longitudinale de racine de Maïs attaquée par *Pythium Graminicola*.

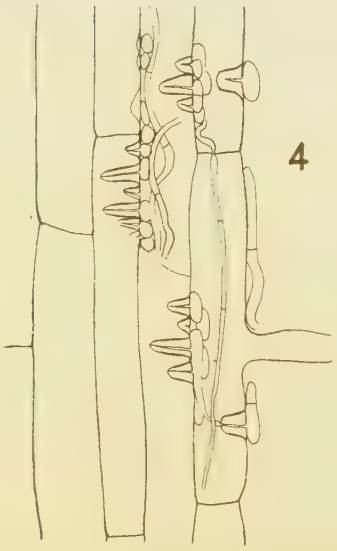


FIG. 4. — Coupe longitudinale de racine de Maïs attaquée par *Phialophora radicicola*.

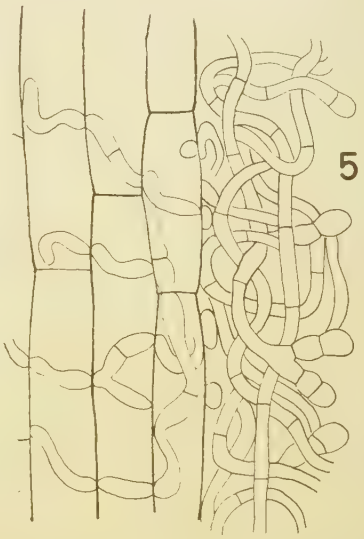


FIG. 5. — Coupe longitudinale de racine de Maïs attaquée par *Rhizoctonia Solani*.

Exemples :
Gibberella Zeae et *Fusarium culmorum.*
Pythium graminicola.

Type 2 : envahissement plus lent des racines, le passage des filaments d'une cellule à l'autre s'accompagnant de la formation de lignitubers (fig. 4) analogues à ceux décrits pour le piétin du blé.
Exemples :
Phialophora radicicola (racines colorées en brun.)
Phaeocytosporella Zeae (racines colorées en brun.)
Pyrenochaeta terrestris, (racines colorées en rose.)

Type 3 : racines et radicelles attaquées à leur pointe, ce qui provoque la formation de racines latérales. Le système racinaire prend un aspect coralloïde (dans le cas où le grain et l'hypocotyle échappent à l'infection).
Exemple :
Pythium de Baryanum.

Type 4 : filaments mycéliens formant avant de pénétrer les racines des manchons de couleur chamois. Les nécroses apparaissent assez vite, mais ne s'étendent pas à l'ensemble du système racinaire.
Exemple :
Rhizoctonia solani (fig. 5).

Type 5 : champignons qui ont provoqué quelquefois des nécroses racinaires, mais en faible proportion (ne dépassant pas 10 p. 100 de la longueur totale des racines dans le tube) et sans régularité (nombreux tubes indemnes).
Exemples :
Macrophomina phaseoli.
Acremoniella atra.
Fusarium moniliforme.
Cephalosporium acremonium.
Tetraploa aristata.
Colletotrichum circinans.
Trichoderma viride.
Fusarium poae.
une souche de :
Fusarium oxysporum (souche provenant de racines de maïs).

Enfin les champignons suivants n'ont montré aucune virulence : un *Papulaspora sp.*, de nombreux *Fusarium* des types *oxysporum* et *Solani* isolés sur racines de maïs, *F. Oxysporum, f. melonis, f. Asparagi, f. Gladioli, Pythium oligandrum,* le *Sclerotinia* décrit par SNYDER (9), des

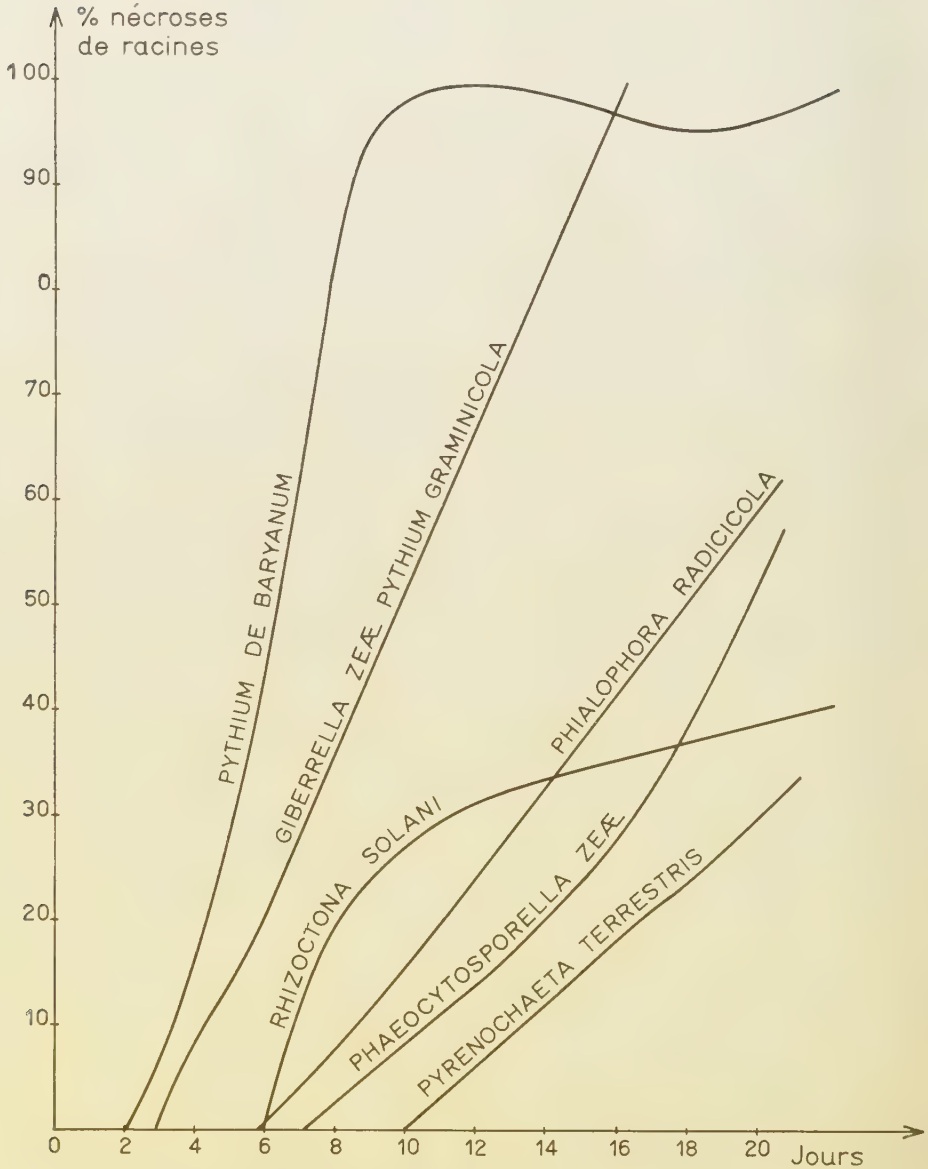


FIG. 6. — Nécroses de racines *in vitro* : virulence comparée des principaux parasites.

Curvularia spp., des *Mycelia sterilia* isolés sur racines de maïs ainsi que des *Alternaria spp.* et *Periconia macrospinosa* (mycothèque du Muséum).

Les courbes de la figure 6 montrent la progression des nécroses de

racines pour les parasites les plus virulents. Il s'agit des moyennes de plusieurs expériences successives.

B. — Inoculations par voie aérienne

Ces inoculations beaucoup plus simples et faciles en plein champ que celles sur racines, ne sont valables que pour les parasites qui, dans la nature, empruntent cette voie, c'est-à-dire *Colletotrichum graminicola* et *Helminthosporium carbonum*.

Nous avons utilisé avec *Colletotrichum graminicola* deux méthodes pour provoquer des épiphyties artificielles :

1° On met à profit une pluie fine et persistante pour pulvériser des spores sur l'ensemble de la parcelle expérimentale.

2° On s'affranchit du désagrément de pulvériser les spores sous la pluie en appliquant la méthode des « foyers artificiels ».

On inocule directement à la seringue un certain nombre de plantes, assez tôt en saison, celles-ci (hors-essais) jouent le rôle de foyers pour les contaminations ultérieures, assurées par les pluies. Une variante de cette méthode consiste à accrocher à la partie supérieure des plantes des fragments de culture de *Colletotrichum* sur papier filtre imbibé de solution nutritive. Cette méthode a été également appliquée avec succès à *Helminthosporium carbonum* race 2.

C. — Inoculation directe des tiges

Cette méthode a été très employée aux États-Unis pour *Diplodia Zeae* et également pour *Gibberella Zeae* (fig. 7 A). Avec ce dernier, les résultats sont malheureusement beaucoup moins rapides et moins nets. Alors qu'au bout de vingt jours un grain d'orge provenant d'une culture de *Diplodia Zeae* introduit dans une tige de maïs a déjà provoqué une nécrose très nette, les symptômes obtenus avec *Gibberella Zeae*, quoique positifs, sont loin de reproduire en gravité et en rapidité, les symptômes de l'infection spontanée. Après avoir préconisé cette méthode, pendant quelques années (10), nous l'avons abandonnée.

D. — Inoculation directe sur racines

Nous avons essayé ensuite d'inoculer directement au champ les racines de pieds de maïs en maturation, avec les souches ayant montré quelque virulence dans les essais en tube.

Signalons tout d'abord que ces méthodes ne nous ont donné des résultats positifs que dans le cas où nos parcelles d'essais étaient situées sur des terrains *neufs pour le maïs*. Des terrains cultivés en pépinières d'arbres fruitiers depuis une dizaine d'années ont donné satisfaction.

Alors que sur des parcelles où maïs et blé dominaient dans l'assolement, aucune différence significative entre les lignes inoculées et les lignes témoins n'a été constatée.

Deux méthodes ont été employées :

1° **Inoculations sur trait de bêche** (fig. 7 B).

Un trait de bêche vertical est pratiqué à 3 cm du pied de maïs. 40 p. 100 environ des racines sont ainsi sectionnées.

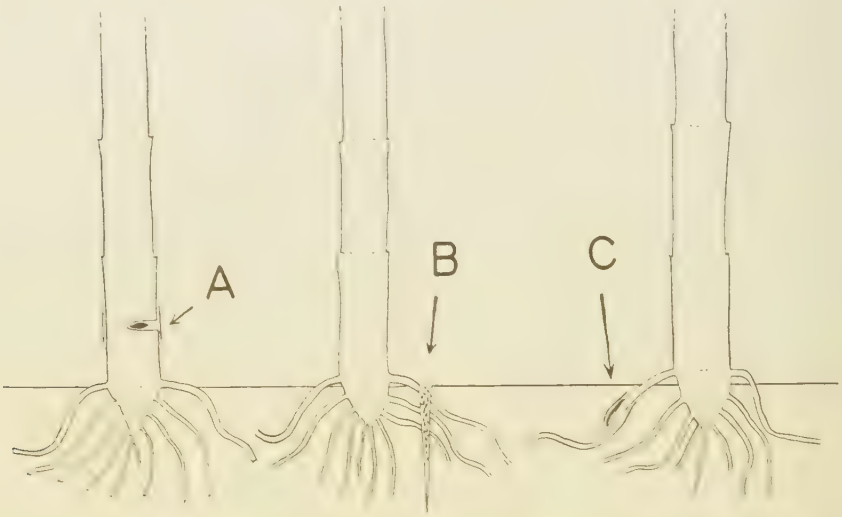


Fig 7. — Schémas d'inoculation de tiges : A : méthode du grain d'orge, B : méthode du trait de bêche, C : inoculation d'une racine isolée.

On verse dans le trait de bêche une suspension dans l'eau d'un broyat grossier de culture sur grains d'orge, à raison d'environ 10 g d'inoculum sec par pied.

2° **Inoculation sur racines isolées** (fig. 7C).

On met à nu quelques centimètres (au-dessous du sol) d'une racine coronaire fonctionnelle, on l'essuie soigneusement avec du coton, on écrase dessus un fragment de culture sur gélose, on entoure le tout de papier cellophane, puis de cellophane adhésive. La terre est remise en place.

La méthode du trait de bêche nous a donné des résultats positifs et en accord avec la sensibilité naturelle en 1956, pour *Gibberella Zeae*.

Nous avons utilisé une collection de vingt hybrides doubles et populations. Le taux d'infection naturelle était multiplié par 3, dans la

parcelle inoculée, la corrélation entre les taux d'infection naturelle et artificielle s'élevait à 0,90. Par la suite, nous avons également obtenu des résultats avec *Phaeocytosporella Zeae*. Avec *Pyrenochaeta terrestris* et *Phialophora radicicola*, nous avons obtenu les colorations spécifiques sur racines, mais l'infection n'a pas gagné la tige. Nous n'avons pas eu de résultats nets avec *Pythium de Baryanum*, *Rhizoctonia Solani*, *Macrophomina phaseoli*. Nous n'avons malheureusement pas pu essayer *Pythium graminicola*, faute d'avoir pu réussir des bocaux de culture sur orge avec ce champignon assez délicat.

Par contamination de racines isolées, nous n'avons eu de résultats qu'avec *Phaeocytosporella Zeae*, champignon pour lequel l'infection d'une ou deux racines suffit à obtenir l'envahissement de la tige (du moins sur un hybride sensible comme A 34 × A 171).

Avec *Gibberella Zeae*, au contraire, il semble nécessaire qu'une proportion importante des racines soit envahie.

E. — Conclusion des essais d'inoculation

Il s'avère que le dessèchement parasitaire des tiges de maïs n'est pas un phénomène simple. Des essais d'inoculation de nos prédécesseurs, et de ceux que nous avons pratiqués, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

On peut distinguer :

1°. Des espèces virulentes sur racines ne pénétrant pas les tiges :
Pyrenochaeta terrestris.
Phialophora radicicola.
Rhizoctonia Solani.
Pythium de Baryanum.

2°. Des espèces virulentes sur racines et capables d'envahir les tiges :
Gibberella Zeae.
Phaeocytosporella Zeae.
(*Pythium graminicola*, que nous n'avons pas isolé sur tiges, ni inoculé sur racines, est, d'après des auteurs américains, capable d'envahir également les tiges).

3°. Des espèces virulentes dont l'évolution est aérienne :
Diplodia Zeae (en Amérique).
Colletotrichum graminicola (en Europe).
Helminthosporium carbonum semble également entrer dans cette catégorie.

4°. Un certain nombre d'envahisseurs secondaires sans véritable virulence :

Fusarium moniliforme (1).
Macrophomina phaseoli (1).
Fusarium spp.
Acremoniella atra.
Nigrospora Oryzae.
Tetraploa aristata.

Comment pouvons-nous représenter le processus complet d'envahissement des tiges?

On observe d'abord, assez tôt en saison (à partir de la floraison), des nécroses primaires de racines (*Pythium spp.*, *Pyrenochaeta*, *Phialophora*, *Rhizoctonia*), sans rapport direct avec la pourriture des tiges, mais pouvant sans doute fournir la porte d'entrée aux parasites définitifs.

En fin de maturation, se manifeste un envahissement assez rapide des tiges par *Gibberella Zeae* et *Phaeocytosporella Zeae* à partir des racines, par *Colletotrichum graminicola* à partir des gaines foliaires.

Accessoirement, les galeries des chenilles mineuses peuvent servir de porte d'entrée pour *Gibberella* et *Colletotrichum*.

D'après nos essais, il est douteux que *Macrophomina phaseoli* soit un parasite actif. En effet, à la base des tiges malades, *G. Zeae* semble toujours présent.

Suivant les régions, les espèces en cause ne sont pas les mêmes. Dans le sud-ouest de la France, si l'on remplace *Diplodia Zeae* par le *Colletotrichum*, la situation semble identique à celle des états américains de grande culture de maïs (Iowa, Indiana, Illinois). Les teneurs du sol en *Gibberella* étant sans doute plus fortes chez nous (11).

Dans la région Parisienne, la situation semble très simple puisque deux organismes sont à peu près seuls en cause : nécroses primaires provoquées par *Pythium de Baryanum* et *Fusarium culmorum* associés, envahissement des tiges par *F. culmorum* seulement.

Dans le sud-est de la France, les températures élevées favorisent *Macrophomina phaseoli*, qui joue peut-être dans ces régions un rôle pathogène et non plus seulement secondaire comme dans le Sud-Ouest.

V. — DESCRIPTION MYCOLOGIQUE DES DIVERS ORGANISMES PATHOGÈNES

Nous donnerons ici quelques indications sommaires sur la morphologie des divers parasites, leur biologie et leur comportement en culture.

(1) Du moins pour nos régions. Il n'est pas exclu que ces deux espèces puissent être des parasites actifs dans les régions tropicales.

GIBBERELLA ZEAE (Schw) Petch.
FUSARIUM CULMORUM (WG.SM).

Si nous suivons la systématique de Snyder et Hansen (12) ces deux champignons rentrent dans l'espèce collective *Fusarium roseum*.

Plus récemment, Snyder (13) a reconnu la validité d'une certaine spécialisation morphologique dans cette espèce et y a signalé des *cultivars*.

Nous distinguerons donc :

— *Fusarium roseum* var. *graminearum* (spores, fig. 8) forme parfaite : *Gibberella roseum* f. *cerealis*.

— *Fusarium roseum* var. *culmorum* (spores, fig. 9).

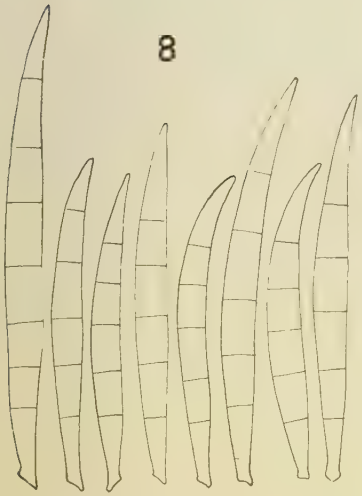


Fig. 8. — Conidies de *Gibberella Zeae*.

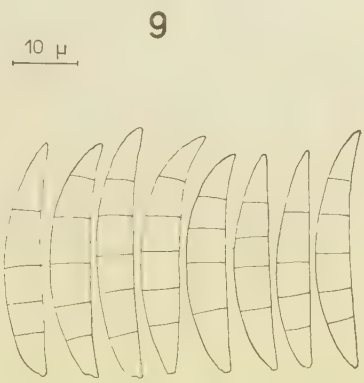


Fig. 9. — Conidies de *Fusarium culmorum*.

Le premier est associé au maïs, à l'orge et au blé dans des régions relativement chaudes ; le second, plus nordique, est associé en général au blé et à l'orge. Il attaque le maïs lorsqu'on cultive celui-ci à la limite Nord de sa zone d'adaptation.

Fusarium culmorum semble incapable de produire des périthèces, aussi bien dans la nature, sur les tiges envahies, qu'en milieu artificiel. Alors que nous avons produit des périthèces de *Gibberella Zeae* très facilement sur paille ou papier filtre stérilisés, soumis à un éclairage fluorescent discontinu (12 heures de lumière — 12 heures d'obscurité) *F. culmorum*, dans les mêmes conditions, n'en a jamais produit. On trouvera des indications sur la culture de *Gibberella Zeae* dans un tra-

vail précédent (14). Depuis, nous avons cherché à préciser les exigences alimentaires de ce champignon.

1° *Gibberella Zeae* ne semble avoir besoin d'aucun facteur de croissance, bien que l'extrait de Malt favorise sa pigmentation.

2° Le glucose, le saccharose, l'amidon, la cellulose et une préparation de lignine (1) peuvent être utilisés comme sources de carbone, ainsi qu'une pectine commerciale.

3° Nitrates, sels ammoniacaux et peptones peuvent être également assimilés. Cependant, les combinaisons glucose-sels ammoniacaux et saccharose-sels ammoniacaux semblent défavorables (2) alors que les combinaisons amidon-cellulose et lignine-sels ammoniacaux ne le sont pas (fig. 10).

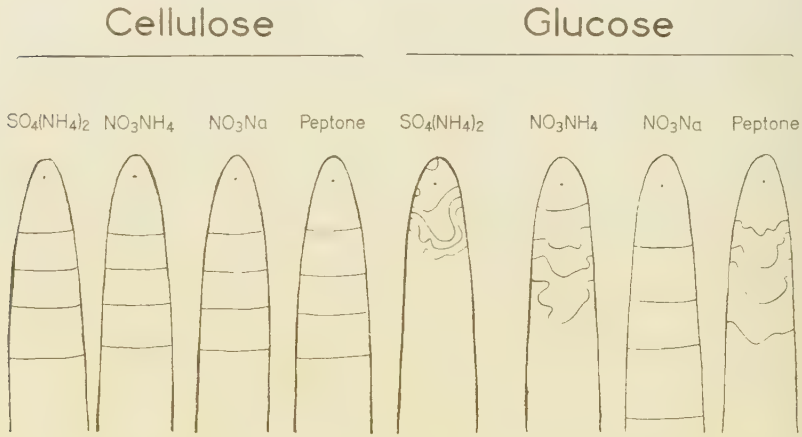


Fig. 10. — Limites des colonies aux 4e, 6e, 8e et 10e jours sur des tubes de milieux contenant diverses sources de carbone et d'azote (*Gibberella Zeae*).

Les courbes de croissance de la figure 11 résument l'ensemble des résultats pour le glucose, le saccharose, l'amidon et la cellulose.

L'aptitude de *Gibberella Zeae* à utiliser des aliments aussi variés permet de comprendre sa persistance dans le sol ou sur les débris végétaux. Son aptitude à dégrader la pectine et la cellulose explique sans doute la perte de résistance mécanique des tiges envahies.

COLLETOTRICHUM GRAMINICOLA (Ces.) Wils. f. sp. *Zeae* (n. f.)

Von Arx (15) a récemment regroupé les *Colletotrichum* à spores falciformes rencontrés sur graminées en une seule espèce : *Colletotrichum*

(1) Lignine préparée à la soude à partir de paille de blé.

(2) La cuisson simultanée à l'autoclave des sucres et des sels ammoniacaux amenant la production d'une couleur jaune, due sans doute à un produit de réaction, les essais ont été faits en stérilisant séparément sucres et sels ammoniacaux.

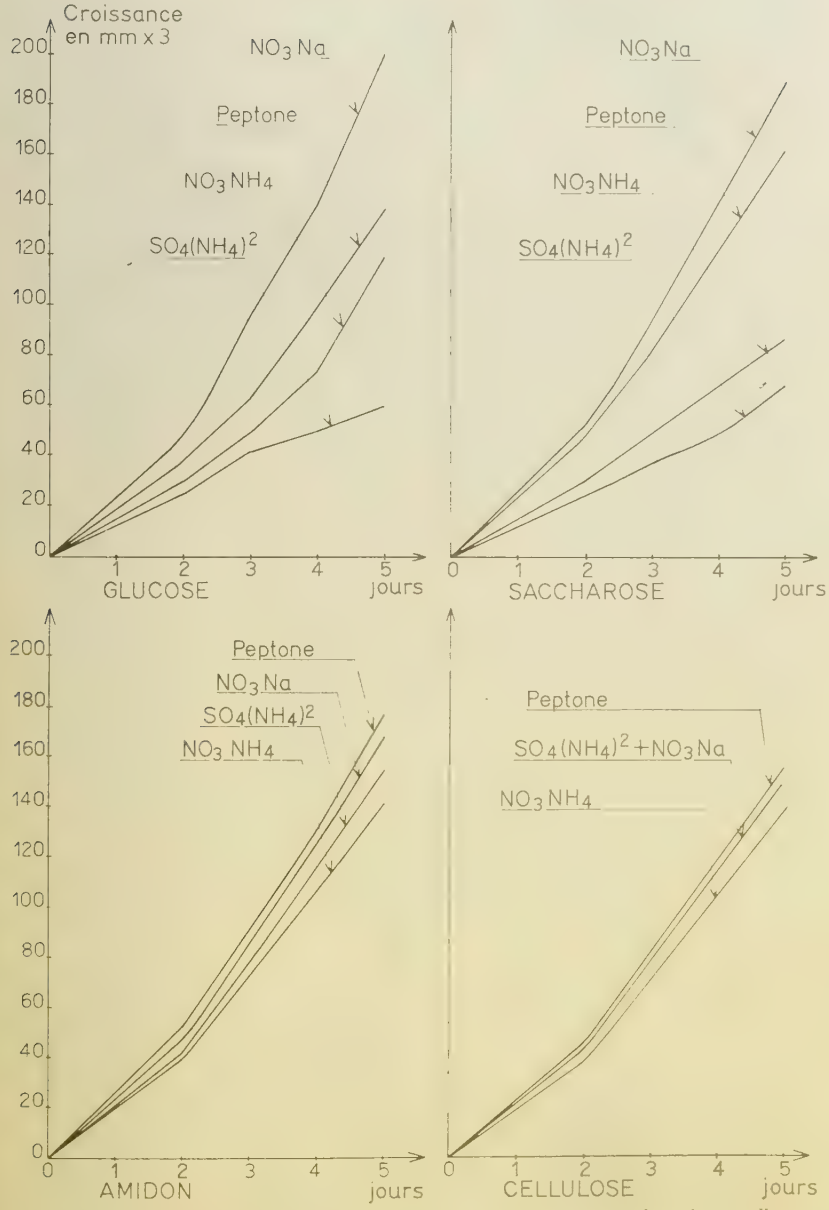


FIG. 11. — Courbes d'accroissement de *Gibberella Zeae* avec diverses sources de carbone et d'azote.

graminicola réunissant ainsi *C. falcatum*, pathogène sur canne à sucre, et *C. graminicola* signalé principalement sur seigle, sorgho et maïs.

Nous pensons que cette simplification est un peu trop absolue. En effet, F. J. Lebeau (16) a montré qu'une spécialisation certaine existe pour les formes virulentes sur sorgho et canne à sucre. De notre côté nous avons essayé d'infecter un grand nombre de variétés de sorgho (types à balai, à grains et sucré) la canne à sucre et le seigle avec notre souche provenant de maïs sans jamais obtenir de résultat positif.

Nous pensons donc qu'il serait légitime d'admettre l'existence de formes spécialisées et proposons pour notre souche : *Colletotrichum graminicola* f. sp. *Zeae* (n. f.). Il serait probablement légitime de créer également les f. sp. *Sorghi, sacchari, secalis*.

L'anthracnose du maïs semble spécifiquement européenne. Elle n'a été signalée à notre connaissance que par Boning au pays de Bade en Allemagne (17), par Mlle Gaudineau dans le sud-ouest de la France, par Von Arx en Hollande (l. c.).

On trouvera des indications sur le comportement en culture de *C. graminicola* dans un travail précédent (18).

Expérimentalement, les plantules de maïs sont très sensibles à l'anthracnose. Cependant, on trouve rarement des dégâts avant la floraison. On observe d'abord des taches foliaires de forme variable, puis des attaques sur gaines, enfin celles sur tiges, avec formation de stries noires caractéristiques (1) (fig. 12). Nous ne pensons pas que la perpétuation de *C. graminicola* soit importante dans le sol. Nos essais *in vitro* ont d'ailleurs conduit à le classer sur racines dans le type 5 (voir plus haut).

Par contre, nous avons pu constater que des tiges atteintes en 1955, utilisées par un cultivateur de Léognan (Gironde) pour construire une cabane, étaient capables aux printemps de 1956 et 1957 de produire des conidies quand elles étaient placées en chambre humide.

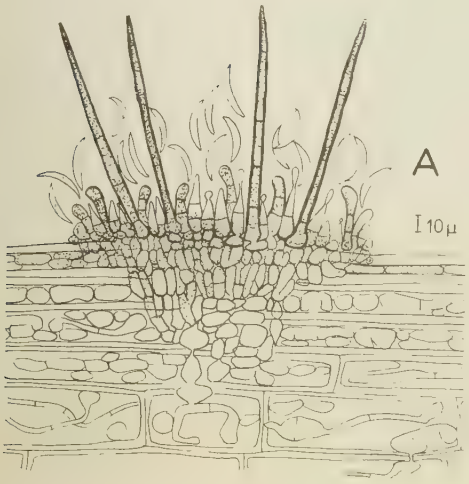
L'anthracnose du maïs semble donc être une maladie à foyers, dont la conservation est assurée par les fragments de tiges malades non enfouies.

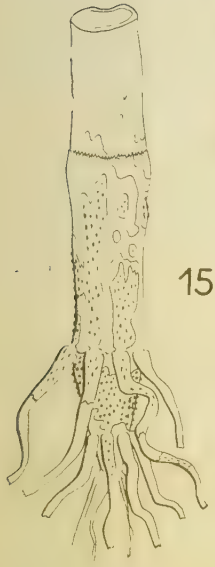
PHAEOCYTOSPORELLA ZEAE Stout.

Cette espèce n'a pas été souvent signalée dans la littérature depuis sa description par Stout (19). Nous l'avons observée dans le Sud-Ouest depuis 1949, mais n'avons découvert l'existence de la diagnose de Stout qu'en 1955. Nous l'avions précédemment classé comme *Coniothyrium sp.*, son allure étant voisine de celle de *C. sacchari*. Del (2). Le nom de *Phaeo-*

(1) Il est facile d'inoculer artificiellement des épis. Dans la nature ceux-ci sont parfois attaqués par l'intermédiaire du pédoncule. Les grains de base sont alors striés de façon caractéristique.

(2) Les dimensions de spores des deux espèces étant très voisines, nous avions pensé qu'elles étaient identiques. Mais, nous avons pu nous procurer *C. sacchari*, sur des boutures de canne provenant de la Martinique, et avons pu constater que la forme et la couleur des spores étaient très différentes, de même que l'aspect en culture.





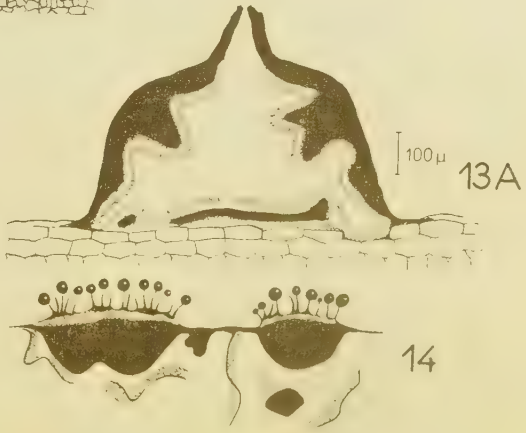


Fig. 12. — A : ascervule de *Colletotrichum graminicola*, B : tige attaquée.
Fig. 13. — A : pycnides de *Phaeocytosporella Zeae*, B: conidiophores et conidies.
Fig. 14. — Pycnides de *Phaeocytosporella* en culture, montrant les cols.
Fig. 15. — Tige attaquée par *Phaeocytosporella Zeae*.

cytosporella créé par STOUT convient tout à fait au champignon dont les pycnides lobées et les stérigmates filiformes ressemblent à ceux de Valsacées (fig. 13). En culture, les pycnides sont pourvues de longs cols (fig. 14). Ceux-ci sont assez rares sur les tiges de maïs, sauf dans le cas où un entrenœud souterrain reste protégé par sa gaine foliaire.

P. Zeae ne remonte jamais au-dessus du deuxième ou troisième nœud au-dessus du sol. Il n'infecte jamais les épis (bien qu'expérimentalement, il soit sur épis d'une grande virulence). Les tiges envahies sont le plus souvent marquées de lignes noires caractéristiques (fig. 15) entourant des groupes de pycnides. Ces lignes peuvent cependant faire défaut, car en infection artificielle nous avons obtenu des tiges entièrement envahies, ne portant pas de lignes noires. En dernière analyse, celles-ci ne se produisent que lorsqu'il y a concurrence entre *P. Zeae* et d'autres espèces : *Gibberella*, *Pyrenochaeta* et *Phialophora*, etc. Elles doivent sans doute être considérées comme une réaction de défense de *P. Zeae*. Elles se produisent cependant spontanément en culture sur les milieux riches. Nous n'avons pas étudié les exigences nutritives du *Phaeocytosporella*. Il semble cependant que ce champignon a besoin de facteurs de croissance, et a une prédilection pour les milieux riches en amidon. Il ne pousse pas sur la cellulose.

La germination des spores est très lente et très difficile sur les milieux que nous avons essayés. On pourrait envisager que celles-ci se conservent dans le sol et ne germent qu'au contact des racines de maïs, mais cette hypothèse reste à vérifier [1].

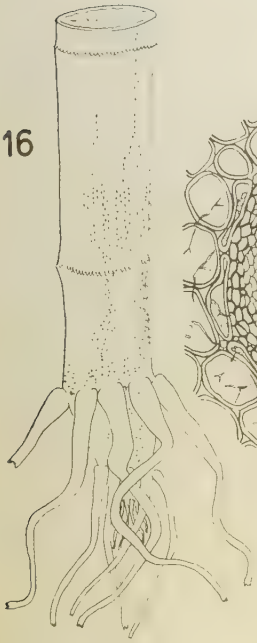
DIPLODIA ZEAE (Sch.) Lev.

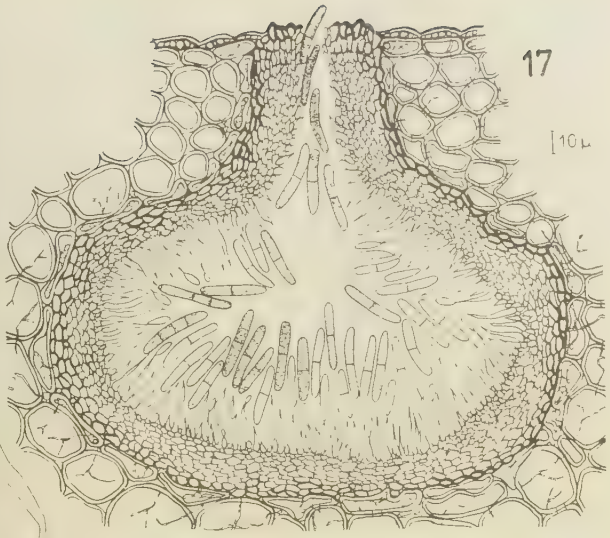
Nous n'avons rencontré cette espèce qu'une fois, sur une seule tige de maïs en 1954 à St-Martin-de-Hinx (Landes). Le champignon a été isolé. Des essais de contamination de plantules ont été tentés pendant l'hiver et des contaminations sur tiges et épis dans une parcelle isolée en 1955. Nous avons ainsi apprécié la virulence de ce parasite si redouté aux États-Unis, et dont la biologie est comparable à celle de *Colletotrichum graminicola*. Les tiges et épis contaminés ont été brûlés, la parcelle n'a pas été semée en maïs depuis lors. Les années suivantes *D. Zeae* n'a pas été retrouvé, et nous avons abandonné l'étude de ce parasite.

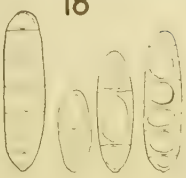
Les tiges atteintes ont un aspect caractéristique (fig. 16) et portent des pycnides (fig. 17) laissant échapper par temps humide des cirrhes noirs.

Comme le *Phaeocytosporella*, *D. Zeae* pousse bien sur les milieux à base de farine.

[1] L'un d'entre nous à tout dernièrement obtenu la germination de spores de Phaeocytosporella dans un extrait de racines de Maïs, ce qui semble confirmer notre hypothèse,







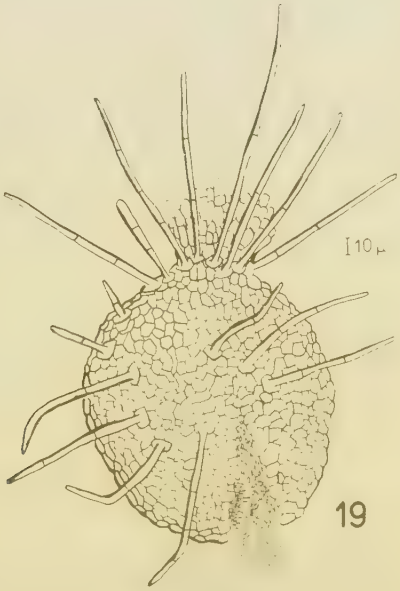


Fig. 16. — Tige attaquée par *Diplodia Zeae*.
Fig. 17. — Pycnides de *Diplodia Zeae*.
Fig. 18. — Spores d'*Helminthosporium turcicum* (à gauche) [illegible] (à droite).
Fig. 19. — Pycnide de *Pyrenochaeta terrestris*.
Fig. 20. — Pycnides irrégulières de *Pyrenochaeta* en culture.

HELMINTHOSPORIUM CARBONUM Ullstrup.

Nous avons trouvé en 1957 sur tiges de A 34 × A 171 à St-Martin-de-Hinx (Landes) un *Helminthosporium* différent de *H. turcicum*, le seul que nous connaissions jusqu'alors. La souche a été envoyée au Professeur Ullstrup (Université de Lafayette, Indiana) qui a bien voulu comparer notre souche aux siennes. Elle est très voisine de son *Helminthosporium carbonum* race 2, parasite peu virulent, mais attaquant un grand nombre de variétés de maïs (fig. 18).

En plein champ, par la méthode signalée plus haut, nous avons obtenu des taches foliaires sur A 34 × A 171 et A 166 × A 188 et un envahissement de la partie supérieure des tiges sur A 34 × A 171. Nous n'avons rien obtenu sur I*a*153 × A 374 et I*a*153R × A 374. Cet *Helminthosporium* ne semble pas pour le moment très répandu dans nos régions.

A Versailles (Seine-et-Oise), l'un d'entre nous a pu isoler un *Helminthosporium* de type « *Carbonum* » également, provoquant de graves dégâts sur feuilles, tiges et épis de plusieurs lignées précoces d'origine française. Le comportement de cette souche est très voisin de celui de *Helminthosporium carbonum race* 2 (1).

MACROPHOMINA PHASEOLI (Maubl.) Ashby.

Nous n'avons en réalité rencontré que la forme à microsclérotes *Sclerotium bataticola* Taub. Ce champignon, assez fréquent sur tiges de maïs surtout dans le Sud-Est ne semble pas, d'après nos essais, avoir un rôle parasitaire très net (voir plus haut).

Ceci rejoint les constatations générales (20) sur le dépérissement des œillets de Mme Moreau pour qui *Macrophomina phaseoli* n'est qu'un envahisseur secondaire venant à la suite de *Phialophora cinerescens*. *M. phaseoli* pousse facilement sur la plupart des milieux de culture courants. Aucune de nos souches n'a produit de pycnides en milieu artificiel, malgré les traitements variés que nous leur avons fait subir.

PYRENOCHAETA TERRESTRIS (Hans.) Gorenz.

Les espèces précédentes étaient capables d'envahir les tiges, *Pyrenochaeta terrestris* et les espèces suivantes ne dépassent pas les nœuds souterrains.

Les racines envahies par *P. terrestris* sont colorées en rose (d'un rose plus foncé et plus « vineux » que celles envahies par *Gibberella Zeae*) et portent parfois des pycnides caractéristiques (fig. 19). Des taches du

(1) Des études poursuivie ultérieurement à la rédaction de ce mémoire semblent montrer qu'il s'agit d'une nouvelle race : dimensions plus petites des spores, symptômes particuliers sur plantules.

même rose (portant souvent des pycnides) s'observent quelquefois sur la portion souterraine de la tige, à l'insertion de racines attaquées. La confusion avec *G. Zeae* est possible.

P. terrestris est l'espèce sur laquelle a été décrit par HANSEN le « Dual phenomenon » (heterokaryosis pour la fertilité). En effet, en culture les souches sont soit fertiles, soit stériles, soit le plus souvent mixtes. Elles ségrègent alors en secteurs fertiles et stériles. Les pycnides produites en culture sont irrégulières et pourvues de plusieurs ostioles (fig. 20).

P. terrestris a été à l'origine décrit sur oignon. Nous l'avons également observé sur ail (*Allium sativum*) et sur poireau (*Allium porrum*). En inoculations sur racines de maïs *in vitro*, les souches provenant d'ail et de maïs montrent une virulence comparable. Il en est de même avec des racines d'ail inoculées dans les mêmes conditions. Il ne semble donc pas qu'il y ait des spécialisations parasitaires.

PHIALOPHORA RADICICOLA Cain.

Cette espèce a été récemment découverte par Mc KEEN au Canada (I. c) et décrite par CAIN (21). En France nous avons pu l'isoler sur racines de maïs, de sorgho à balais et de millet des oiseaux (*Setaria Italica*).

De croissance lente, elle est peut-être plus répandue dans la nature que les isolements ne le laissent supposer. C'est, du moins, l'opinion de Mc KEEN.

Les racines attaquées portent des stries d'abord brunes, puis noires (fig. 21). On observe parfois des taches noires à l'insertion des racines attaquées sur la portion souterraine de la tige.

En culture, nous avons obtenu des fructifications abondantes avec une des souches, rares avec les autres, et des sclérotes mal définis pouvant atteindre 2 mm (fig. 22, 23).

Phialophora radicicola est le champignon qui produit de loin le plus de lignitubers en contamination de racines *in vitro*. Par cette méthode, nous avons pu également observer la formation de très beaux appressoria sur l'hypocotyle, dans un tube où le champignon avait réussi à l'atteindre (fig. 24). Nous n'avons pas réussi à faire germer les conidies.

PYTHIUM Spp.

Nous avons trouvé sur racines de maïs, trois types de Pythium :

— des souches à conidies sphériques, que nous avons rattachées à *Pythium de Baryanum* Hesse (fig. 26) ;

— des souches à sporanges lobés, à œufs pourvus de nombreuses anthéridies que nous avons classées comme *Pythium graminicola* Subr. (fig. 25) ;

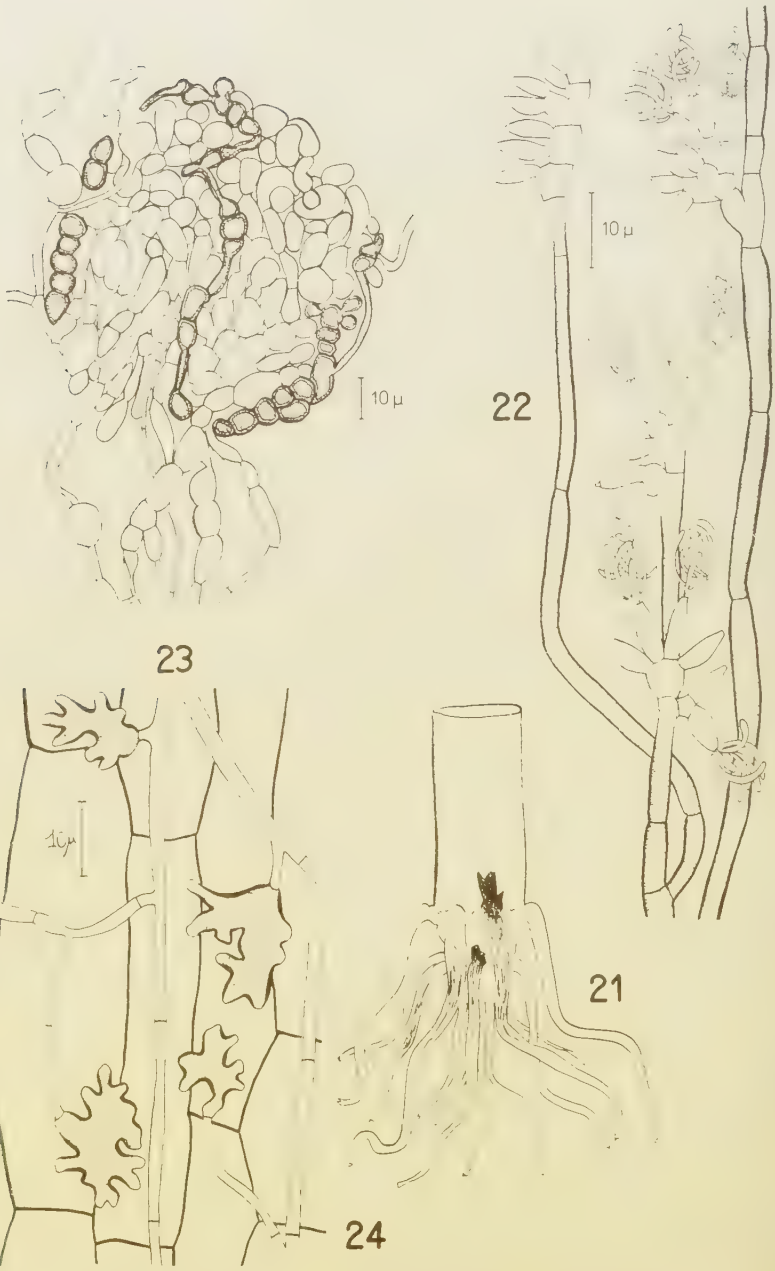


FIG. 21. — Base de tige montrant des racines attaquées par *Phialophora radicicola.*
FIG. 22. — Conidiophores et conidies de *Phialophora radicicola.*
FIG. 23. — Sclérote en formation de *P. radicicola.*
FIG. 24. — Appresoria de *P. radicicola.*

— des souches à œufs parthénogénétiques épineux que nous avons rattachées à *Pythium oligandrum* (fig. 27).

Comme nous l'avons signalé plus haut, seuls *P. graminicola* et *P. de Baryanum* se sont montrés virulents en infections artificielles. Depuis que nous utilisons le milieu d'isolement dont la formule est donnée plus haut, nous avons isolé assez fréquemment *P. graminicola* sur racines de maïs dans le Sud-Ouest. Nous l'avons également observé sur toutes de semis de *Setaria italica*, les hypocotyles contenant de magnifiques sporanges lobés. Les *Pythium* semblent incapables d'utiliser la cellulose.

Il est difficile de décrire des symptômes spécifiques pour les deux *Pythium*. Si *P. de Baryanum* semble confiné aux racines, d'après des auteurs américains *P. graminicola* serait capable d'envahir les tiges. Nous ne l'avons cependant jamais isolé que sur racines (on ne le trouve pas non plus dans les isolements nombreux que B. Koehler a pratiqués à partir de tiges malades).

RHIZOCTONIA SOLANI Kuhn.

Cette espèce que nous avons trouvée sur racines de maïs en faible proportion à St-Martin-de-Hinx et à Versailles, en forte proportion à Montpellier, ne semble pas spécialisée. En effet, la souche qui a montré le plus de virulence sur racines de maïs, provenait de haricots. Nous avons trouvé à St-Martin-de-Hinx en 1954 des tiges de maïs présentant des taches zonées à la base (fig. 28) desquelles nous avons isolé *R. Solani*. Cependant, ce champignon semble en général confiné aux racines.

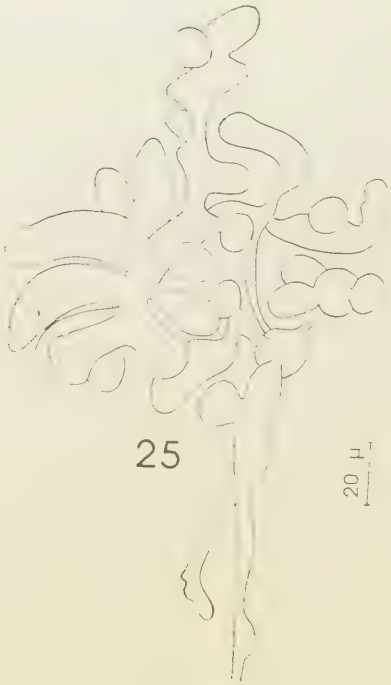
ESPÈCES DIVERSES ET SAPROPHYTES

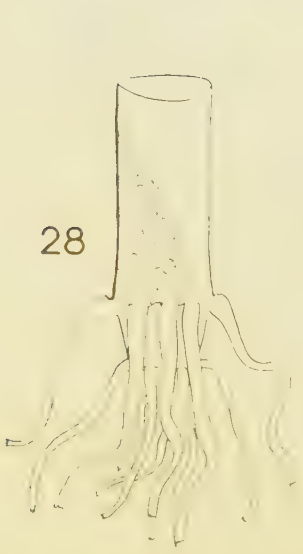
Parmi nos isolements de racines nécrosées, nous avons obtenu de nombreux *Fusarium*, appartenant aux grandes espèces *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. solani*. Aucune d'entre elles n'a montré de virulence appréciable si l'on excepte une souche de *F. oxysporum* provenant de St-Martin-de-Hinx avec laquelle nous avons obtenu 5 p. 100 de nécroses de racines dans le test *in vitro*.

Tous ces *Fusarium* doivent sans doute être considérés sur racines et sur tiges comme des envahisseurs secondaires. Il en est sans doute de même pour *Nigrospora oryzae* [1].

Parmi les Dématiacées fréquentes sur tiges, (*Cladosporium*, *Epicoccum*, *Alternaria*) et dépourvues de virulence, signalons *Acremoniella atra*, très fréquent, et une très curieuse espèce : *Tetraploa aristata* (fig. 29).

[1] Ce champignon est par contre assez virulent sur épis, surtout chez les maïs à grains blancs.





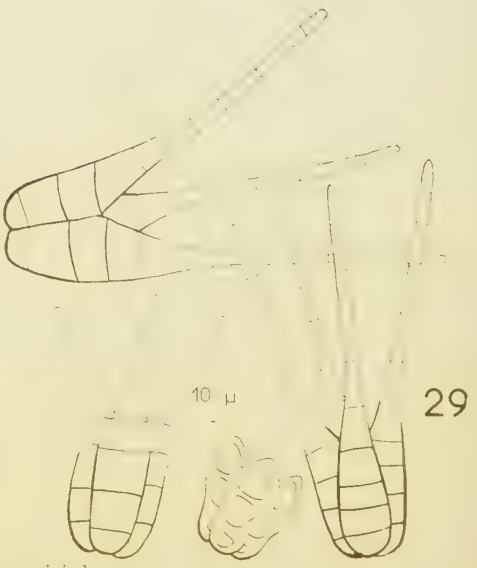


FIG. 25. — Sporange lobé de *Phytium graminicola*.
FIG. 26. — Mycelium et conidies de *Pythium de Baryanum*.
FIG. 27. — Œufs de *Pythium oligandrum*.
FIG. 28. — Tige de Maïs attaquée par *Rhizoctonia Solani*.
FIG. 29. — Spores de *Tetraploa aristata*.

VI. — LA RÉSISTANCE ET SA NATURE

Ici, comme dans beaucoup d'autres cas, l'amélioration des plantes a précédé la pathologie. La résistance des tiges aux parasites décrits précédemment a été un des soucis majeurs des améliorateurs du maïs en Amérique et en Europe, avant même que la complexité du problème soit pleinement entrevue par les pathologistes. Nous ne pensons pas avoir apporté aux problèmes de la résistance une contribution entièrement originale. Nous chercherons ici à dégager des travaux étrangers les plus récents et de notre propre expérience une idée générale sur le mécanisme de la résistance.

A. — Physiologie du maïs en voie de maturation

Si jusqu'à la floraison la physiologie du maïs est dominée par l'apex de la tige (méristème, puis jeune panicule), à partir de la fécondation, c'est l'épi latéral qui devient l'organe directeur des phénomènes physiologiques.

Des travaux classiques ont montré que la migration des substances synthétisées par les feuilles, et en particulier du saccharose, s'effectuait au profit de l'épi, qu'il s'agisse des feuilles inférieures ou supérieures. Un gradient de teneurs en sucre s'établit ainsi à partir du sommet et de la base de la plante, la teneur maximum étant observée au nœud de l'épi et dans son pédoncule.

L'ablation de l'épi, après fécondation, modifie considérablement la physiologie de la plante, la migration ayant lieu alors au profit de la base de la tige et des racines. Récemment, on a pu préconiser la production de sucres à partir de tiges de maïs en utilisant des hybrides mâles-stériles en plantation isolée. Les grains ne se forment pas, la stérilité de l'épi aboutit au même résultat que son ablation. Les galles de charbon, en particulier sur les nœuds supérieurs, ont un effet identique à celui d'un épi, détournant à leur profit le sucre produit par les feuilles.

Il est évident que l'effeuillage en fin de maturation, la destruction de la surface foliaire activée par un *Helminthosporium* ou une rouille réduisent l'alimentation en sucre de la plante. Il apparaît donc que dans la répartition des substances synthétisées par les feuilles, le partage entre la base des tiges et les racines d'une part, et l'épi d'autre part, est à l'avantage de ce dernier. Mais les travaux de Singleton aux U. S. A. (22) et de Blanco en Galice (2, 3) ont montré que ce partage pouvait être pour les tiges plus ou moins désavantageux suivant les variétés. La lignée américaine C 103 et les hybrides créés par Blanco, tout en mûrissant de beaux épis, gardent un pourcentage de sucre dans les bases de tiges allant

de 8 à 15 p. 100 suivant les cas, à la récolte. Le caractère « sous-alimentation en sucre » des tiges et des racines en fin de maturation semble donc héréditaire et susceptible d'amélioration.

B. — Études de corrélation

Nous grouperons ici des observations plus ou moins anciennes et des travaux récents ayant comporté des calculs de corrélation.

Deux sortes de corrélation ont été signalées ou calculées, portant soit sur diverses variétés, soit sur des plantes traitées de diverses manières.

1° Corrélations entre sensibilités à des parasites différents.

2° Corrélation entre la sensibilité à un parasite et un caractère de la plante.

HOOKER (24) a récemment étudié les corrélations entre les sensibilités à divers parasites sur plantules et plantes adultes, utilisant une collection de 25 lignées. Ses conclusions sont en résumé les suivantes :

1° Il existe une haute corrélation entre les sensibilités des tiges à *Gibberella Zeae*, *Diplodia Zeae* et l'état sanitaire des racines à la récolte.

2° Au contraire, il n'existe aucune relation entre les sensibilités des plantules à *G. Zeae* et *Pythium spp.* et la sensibilité des plantes adultes aux pourritures des tiges.

Les résultats de nos essais sont en accord avec les conclusions de HOOKER. Nous avons en effet trouvé une haute corrélation entre les sensibilités à *Colletotrichum graminicola* (inoculations artificielles) et à un complexe où dominait *G. Zeae* (infection spontanée).

Nous avons d'autre part retrouvé de façon indirecte la deuxième conclusion des travaux de HOOKER par l'échec de l'expérience suivante : afin de voir si un test précoce de résistance à *G. Zeae* était possible, nous avons utilisé des grains d'un épi de Blanc des Landes qui dans nos essais de 1956 avait été très attaqué sur tiges par *G. Zeae*. Cet épi, en pollinisation libre, avait été en grande partie fécondé par les lignes voisines, un hybride denté à grains jaunes, beaucoup plus résistant. On pouvait donc s'attendre à une grande hétérogénéité.

Ces grains ont été semés en serre le 15 avril dans des pots de terre additionnée de culture de *G. Zeae* sur grains d'orge.

Le 8 mai, les plantules ont été arrachées avec précaution et les racines lavées. Elles ont été divisées en quatre classes : 0 à 25 p. 100, 25 à 50 p. 100, 50 à 75 p. 100, 75 à 100 p. 100 de racines nécrosées, puis repiquées en plein champ. A la récolte, les proportions de tiges malades dans les quatre lots n'étaient pas significativement différentes. De même, dans les essais sur racines in vitro, avec les principaux parasites, nous n'avons pas eu des attaques plus faibles, en employant l'hybride résistant Iowa 153 R × A 374 qu'avec A 34 × A 171, utilisé d'habitude.

Pour *Colletotrichum graminicola*, tous les hybrides que nous avons essayés au stade plantule, se sont montrés sensibles, même si les plantules adultes montraient une bonne résistance.

Loomis, un des premiers, avait signalé que les tiges des pieds de maïs privés d'épi résistaient beaucoup mieux au dessèchement parasitaire et qu'au contraire, celles des plantes effeuillées après fécondation étaient plus attaquées. De nombreux auteurs américains ont confirmé le fait.

D'autre part, Blanco attire l'attention sur le fait que les tiges de ses hybrides restent saines non seulement à la récolte, mais encore un mois après.

L'idée de relier la résistance aux agents de pourriture des tiges et leur bonne alimentation en sucres n'était donc pas originale de notre part, mais découlait de travaux antérieurs.

Nous avons en effet, observé (25) une haute corrélation entre la résistance des tiges au complexe parasitaire sévissant à St-Martin-de-Hinx en 1957 (par ordre d'importance : *Gibberella*, *Anthracnose*, *Phaeocytosporella*, divers), et la teneur en sucre des tiges (notée sur les tiges saines) au moment de la récolte, et fixé à 5 p. 100 de sucre le seuil au-dessus duquel la résistance commençait à devenir satisfaisante (voir courbe fig. 30 et tableau III).

Tableau III

	Variétés	Indice refracto métrique IR	Ecart type de IR	% sucres base de tiges	% anthracnose Villenave d'Ornon	% verse parasitaire St-Martin-de-Hinx
A	A 34 x A 171.....	343,1	6,2	0,84	59,5	93,1
B	A 166 x A 188.....	348,4	10,8	1,04	32,5	46,6
C	W 9 x M 13.....	366,3	22,0	2,44	4,6	15,5
D	Ia 153 x W 25.....	366,4	19,9	2,49	12,7	17,7
E	Ia 153 x A 374	370,7	23,7	2,75	8,0	20,0
F	Ia 153 R x A 374....	395,0	35,4	4,35	5,6	2,2
G	U 24.....	363,6	24,7	2,18	25,5	24,5
H	Doré de Gomer	422,0	54,1 (1)	—	18,25	26,7
I	Blanc des Landes.....	407,0	57,4 (1)	—	20,0	26,7
J	M 706 (privé d'épi) ..	511,4	36,4	12,0	6,9	0,0
K	M 706 (normal)	353,2	16,5	1,50	39,0	56,0
L	M 706 (demi-effeuillé) .	344,5	6,1	0,98	72,0	83,0

(1) Ces deux écarts-types n'ont en réalité aucune signification. La distribution de IR, pour ces deux populations, présentent plusieurs modes.

La corrélation anthracnose (essai de Villenave d'Ornon) complexe de St-Martin-de-Hinx est de 0,96, donc hautement significative. Nous avons cherché à établir une relation entre l'indice réfractométrique (IR) et la sensibilité à la verse parasitaire à St-Martin-de-Hinx. Nous n'avons pas fait entrer dans le calcul les deux populations dont la distribution n'était pas normale pour IR. Elles étaient constituées par un mélange de pieds à

tige très sucrée et très peu sucrée. La relation ne semblant pas linéaire, nous avons calculé la corrélation entre le pourcentage de tiges malades et la quantité 1/% sucres. La corrélation est de 0,05, hautement significative.

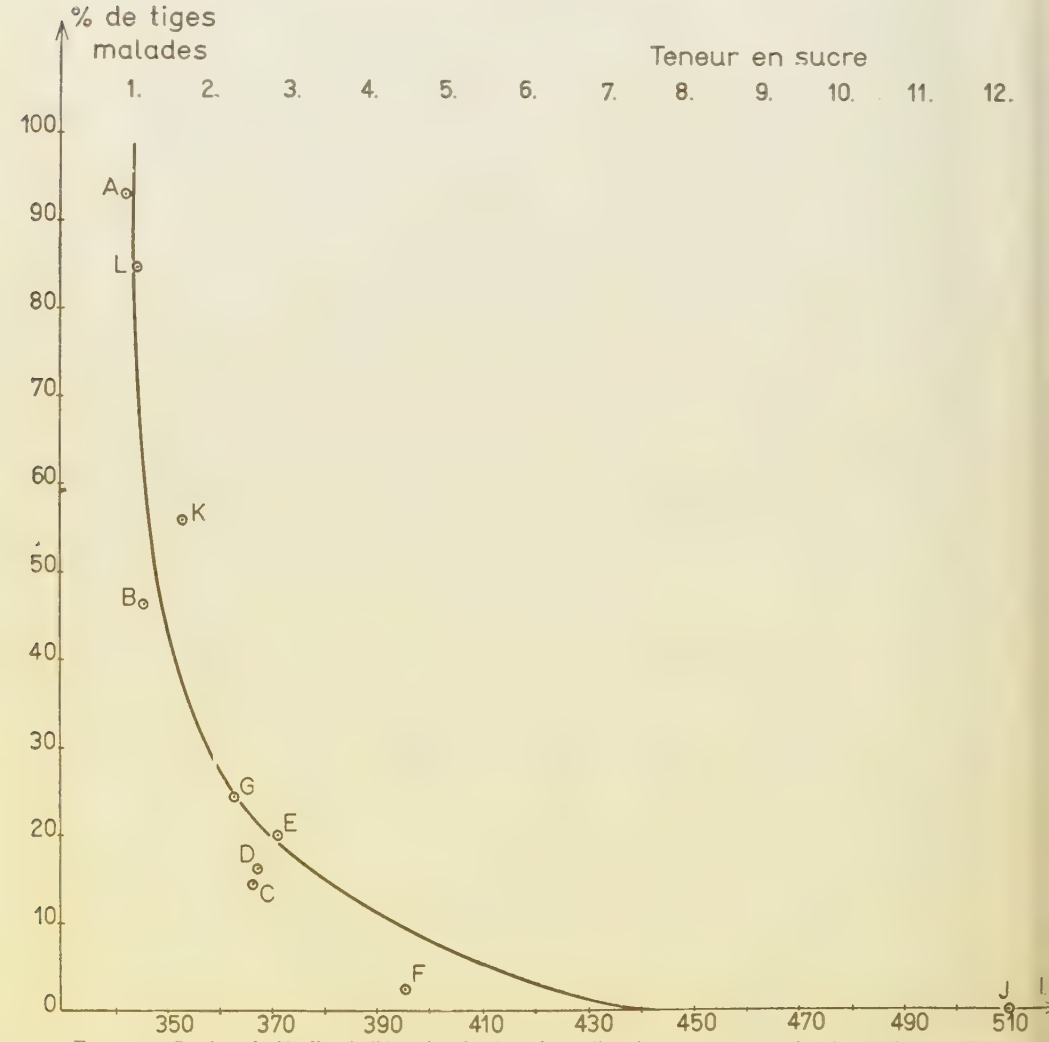


FIG. 30. — Courbe calculée d'après l'équation de régression, reliant la teneur en sucre des tiges et leur sensibilité.

C. — Nature de la résistance

Loin de nous la pensée que la teneur en sucre des tiges, et elle seule, puisse être la cause directe de leur résistance au complexe parasitaire décrit plus haut.

Si nous nous référons aux notions classiques sur la résistance des plantes maraîchères (chou, tomate) aux fusarioses, nous distinguerons trois types de plantes :

— type S : plantes sensibles,

— type B : plantes résistant de façon satisfaisante au champ, mais inoculables en serre ou sur plantules,

— type A : plantes résistant de façon absolue, quelles que soient les conditions.

L'hérédité de la résistance du type A est simple (un seul gène chez la tomate). La résistance du type B au contraire est polygénique et d'hérédité intermédiaire.

Il semble évident que la résistance des tiges de maïs à *Gibberella Zeae*, et aux autres membres du complexe se rattache au type B, et non au type A, puisque les plantules de toutes les variétés sont inoculables.

Comment interpréter cette forme de résistance? On peut envisager deux hypothèses :

1° La résistance intrinsèque des cellules des racines et des tiges ne se manifeste que si elles sont bien alimentées.

2° Un facteur de résistance hypothétique, synthétisé par les feuilles migre vers les racines parallèlement aux sucres.

Pour choisir entre ces deux idées, des expériences sur cultures de racines isolées seraient nécessaires.

Il est en tout cas improbable que la pression osmotique, à elle seule, empêche la croissance de *Gibberella Zeae*, puisque son optimum de croissance en culture se situe aux environs de 10 p. 100 de saccharose. En plus de la forme principale de résistance nous ne devons pas négliger les facteurs annexes.

1° Les nécroses primaires des racines (*Pythium, Pyrenochaeta, Phialophora*), fournissant d'après les auteurs la porte d'entrée aux envahisseurs définitifs (*Gibberella, Phaeocytosporella, Macrophomina*), une résistance intrinsèque à ces agents primaires pourra contribuer à la résistance ultérieure.

2° L'effeuillage augmentant la sensibilité des tiges, il est évident que la résistance des feuilles aux Helminthosporioses et aux Rouilles sera également une cause indirecte de résistance des tiges. De même, la résistance au charbon, dont les galles détournent à leur profit les produits de la photosynthèse.

3° Nous devons signaler que des plantes à feuilles et tiges pourpres (utilisées pour l'obtention des haploïdes) se sont montrées plusieurs années de suite indemnes d'anthracnose, bien que sensibles à *Gibberella Zeae*. Il est possible que l'anthocyane soit un facteur annexe de résistance à *Colletotrichum graminicola* (on connaît la résistance des oignons colorés vis-à-vis de *C. circinans*).

La figure 31 schématise les divers facteurs envisagés ci-dessus.

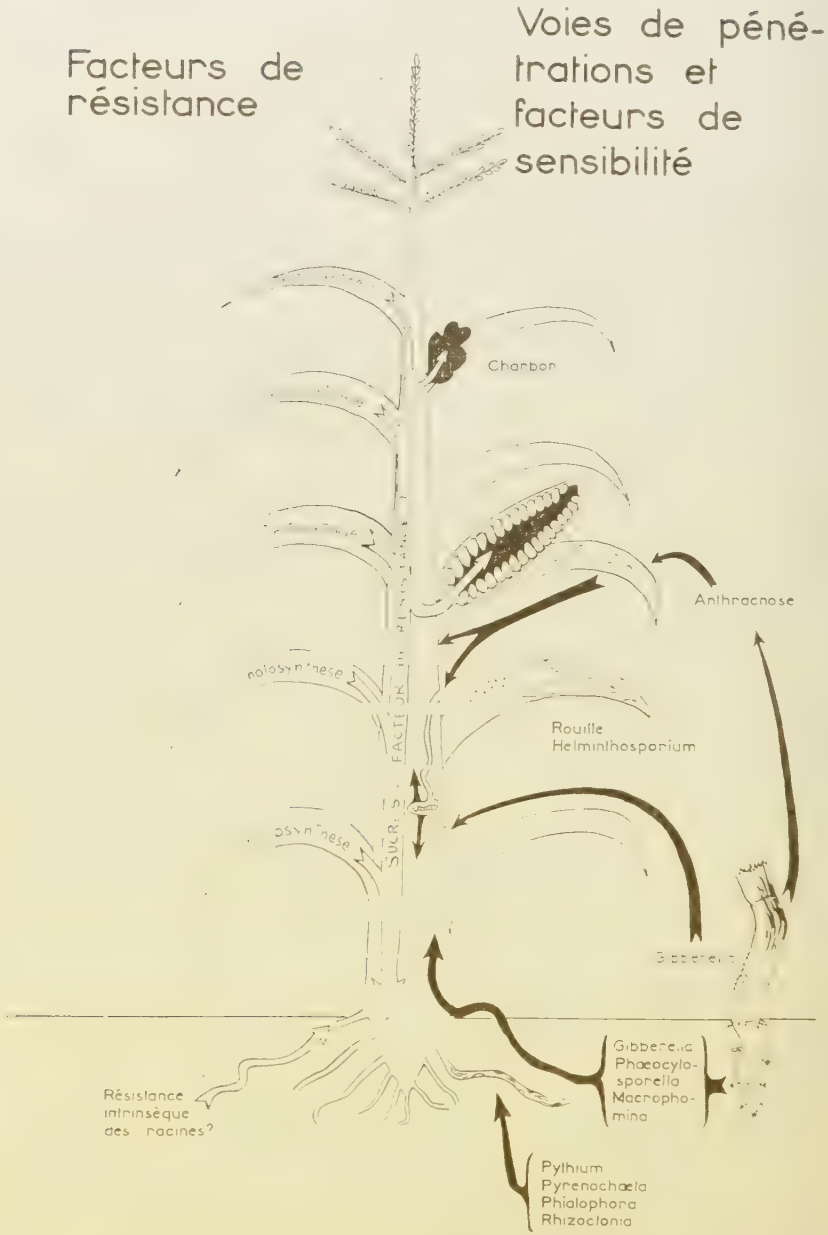


FIG. 31. — Schéma des voies de pénétration et des facteurs de résistance et de sensibilité.

D. — Conseils pratiques pour la sélection

D'un point de vue pratique, quelle peut être l'utilité des considérations précédentes pour les sélectionneurs? Les indications suivantes pourront leur être utiles :

1° S'il est facile, comme nous l'avons vu plus haut, de provoquer des épidémies artificielles d'anthracnose, les inoculations sur tiges ou sur racines semblent inutiles pour la pratique de l'amélioration (en l'absence de *Diplodia Zeae*). Un assolement où le maïs domine (un an sur deux ou deux ans sur trois) suffira à assurer au sol une teneur élevée en *Gibberella* et d'autres agents du complexe parasitaire. Pour homogénéiser cette teneur on aura intérêt à cultiver de temps en temps un hybride sensible sur toute la parcelle.

Pour le sud-ouest de la France nous pouvons préconiser l'assolement suivant :

Première année : blé.

Deuxième année : M 706 (hybride sensible).

Troisième année : comparaison de sensibilité des tiges.

Si l'on désire accroître l'incidence de l'anthracnose, on pourra conserver des tiges malades et en planter des fragments de 20 à 30 cm sur la ligne à intervalles réguliers.

2° L'usage du réfractomètre donnera une sécurité de plus dans le choix des plantes résistantes : on pourra être sûr qu'elles ont ainsi vraiment résisté et non « échappé ».

3° L'appréciation de la résistance, ou de la teneur en sucre de la tige, n'est valable que sur une plante portant un épi bien garni, non endommagé par les oiseaux, indemne de charbon et aux feuilles saines. Si la Rouille et l'Helminthosporiose sévissent dans la région, l'amélioration pour la résistance des tiges et des feuilles doit être menée de front.

4° La résistance semble liée à la physiologie de la maturation, on ne peut comparer les plantes qu'à précocité égale. Cette précocité doit plutôt être jugée sur l'intervalle levée-floraison, car les plantes sensibles ont leur maturité hâtée par l'échaudage dû au dessèchement parasitaire des tiges. A 34 × A 171 est beaucoup plus tardif sur un terrain neuf que sur une parcelle où le *Gibberella* sévit.

5° Il est important que les deux parents de chaque hybride simple aient des sensibilités comparables afin qu'il n'y ait pas disjonction dans l'hybride double. La date de récolte est en effet difficile à déterminer dans le cas où on se trouve en présence d'un mélange de tiges sensibles et résistantes.

Ceci nous amène à poser l'épineuse question de l'influence favorable du *Gibberella* sur la maturation. On pourrait concevoir une résistance purement mécanique à la verse, la rigidité des tiges étant assurée par

leurs fibres et leur forte section. On ne doit pas cependant oublier les propriétés pecto et cellulolytiques du *Gibberella*. Si nous pensons qu'il est inutile, pour la production de maïs-grain d'avoir à la récolte des tiges contenant 10 p. 100 de sucre, l'optimum de 5 p. 100 qui se dégage de notre courbe nous semble satisfaisant, la date normale de la récolte coïncidant avec le point critique de sensibilité aux verses parasitaires.

RÉSUMÉ

La pourriture des tiges et la verse parasitaire du maïs sont provoquées en France par un complexe comprenant plusieurs champignons ; ceux-ci pénètrent dans les tiges par trois voies principales : directement (*Colletotrichum graminicola*), par les galeries des chenilles mineuses (*Gibberella* et *C. Graminicola*) et par les racines (*Gibberella Zeae* et les autres champignons du sol).

Des indications sont données pour les isolements à partir de racines nécrosées (méthodes et milieu de culture).

On peut distinguer des envahisseurs primaires des racines, qui ne pénètrent pas les tiges : *Pythium de Baryanum, P. graminicola, Pyrenochaeta terrestris, Phialophora radicicola, Rhizoctonia Solani*. A la fin de la maturation, les tiges sont envahies par *Gibberella Zeae* (remplacé par *Fusarium culmorum* dans le nord de la France), *Phaeocytosporella Zeae, Macrophomina phascoli. Helminthosporium carbonum* a été trouvé en 1957-58, *Diplodia Zeae* une fois en 1954, mais n'a pas reparu.

La virulence de *G. Zeae, Phaeocytosporella Zeae, Phialophora radicicola, Pyr. terrestris, P. de Baryanum, P. graminicola* a été vérifiée sur les racines de plantules de maïs stériles.

Des inoculations de racines en plein champ sont possibles avec *G. Zeae* et *Phaecocytosporella Zeae* sur des terrains neufs pour le maïs.

Les principaux parasites sont décrits des points de vue mycologique et biologique. *G. Zeae* est capable d'assimiler glucose, saccharose, amidon, cellulose et lignine d'une part, nitrates, sels ammoniacaux et peptones d'autre part. La combinaison glucose-ammoniaque est la plus mauvaise.

Il y a de fortes corrélations entre :

— la sensibilité des tiges à *D. Zeae* et *G. Zeae* (Hooker U. S. A.) ;

— la sensibilité des tiges à *G. Zeae* et *Colletotrichum* (France) ;

— la teneur en sucre des tiges et leur résistance.

La résistance des tiges à *Gibberella* et aux autres champignons n'est pas liée à celle des plantules. On peut l'assimiler à la résistance de type B aux Fusarium de la tomate et du chou.

D'autres facteurs de résistance peuvent exister : résistance intrinsèque aux agents de nécroses primaires, résistance des feuilles aux Helminthosporioses et aux Rouilles, résistance au Charbon, anthocyanes des tiges (pour l'anthracnose).

Quelques conseils pratiques sont donnés aux sélectionneurs.

SUMMARY

Stalk rot and lodging of Maïze are caused in France by a complex including several fungi.

There are three ways of penetration in the stalks : direct for the anthrac-

nose fungus, *Colletotrichum graminicola*, through the holes of borers, for *Gibberella Zeae* and *Anthracnose* and through the roots for *Gibberella Zeae* and the other soil fungi.

Methods and a culture medium for the isolation of root infecting fungi are described.

Primary root invaders which do not penetrate the stalks are : *Pythium de Baryanum, Pythium graminicola, Pyrenochaeta terrestris, Phialophora radiacola, Rhizoctonia Solani.*

The stalks are invaded at the end of maturation by : *Gibberella Zeae* (*Fusarium culmorum* replaces it in Northern France). *Phaeocytosporella Zeae, Macromina Phaseoli. Helminthosporium carbonum* was found in 1957-1958. *Diplodia Zeae* was found once in 1954, and disappeared.

The virulence of *G. Zeae, Phaeocytosporella Zeae, Phialophora radicicola Pyrenochaeta terrestris, P. de Baryanum, P. Graminicola* was tested, and found positive, on sterile roots of maïze seedlings. Successful inoculation of roots in the field are possible with *G. Zeae* and *Phaeocytosporella* on land new for maïze.

A mycological description of the pathogenic fungi is given. *G. Zeae* is able to grow on glucose, starch, cellulose, lignin for C, and on No_3, NH_4 and peptons for N. The glucose-NH4 combination is the worst.

There are high correlations between :

— sensibility of stalks to *Diplodia* and *Gibberella* (U. S. A. Hooker),

— sensibility of stalks to *Gibberella* and *Anthracnose* (France),

— sugar content of stalks and resistance.

The resistance of Maïze stalks to *Gibberella* and other fungi is not correlated with the resistance of seedlings. It may be assimilated to type B (*Fusarium*) resistance in *Lycopersicum* and *Brassica.*

Some other factors of resistance may be : intrinsic resistance of roots to primary invaders — resistance of leaves to *Helminthosporium* and rust, resistance to smut — anthocyanins in stalks for *Colletotrichum.*

Some pratical advices to Maïze breeders are given.

Reçu pour publication le 6 mai 1959.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

KOEHLER

(1) Hooker (B.) et Boewe (G. H.). — Causes of corn stalk rot in Illinois. *Plant Dis. Rept.*, **41**, 501-504, 1957.

(2) Gaudineau (M. Mlle). — Les maladies cryptogamiques du maïs. *Comptes rendus du IIe Congrès intern. du Maïs, Pau*, 1949.

(3) Gaudineau (M. Mlle) et Messiaen (C. M.). — Quelques maladies cryptogamiques sur épis, tiges et feuilles de maïs. *Ann. Epiph.* **III**, 273-299, 1954.

(4) Ho (W. C.). — Soil inhabiting fungi attacking the roots of maize. *Kes. Bull.* 332, *Ames, Iowa*, 1944.

(5) Anonyme. — Pathology and mycology of corn. *Rept. Iowa Exp. St.* part II, 49-52, 1945-1946.

(6) Staffeld. — Effect of four crop rotations on soil fungi and corn root necrosis. *Iowa State Coll. Journ. Sci.*, **28**, 3, 403-404, 1954.

(7) Mc Keen. — *Phialophora radicicola.* A corn root pathogen. *Canadian Journal of Botany*, 344-347, 1952.

(8) Mc Keen. — Preliminary studies on root and basal stalk rot of maturing corn in Ontario, *Canadian Journal of Botany*, 132-141, 1953.
(9) Snyder (W. C.) et Hansen (H. N.). — A Sclerotinia sp. (Imp. *Sclerotium*) with limited anti-fungal activity. *Phytopathology*, **47**, 33, 1957 (abs.).
(10) Messiaen (C. M.) et Lafon (R.). — L'intérêt des méthodes de contami, nation artificielle dans l'amélioration du maïs (*Ann. Amél. des Plantes*-**III**, 383-390, 1956.
(11) Messiaen (C. M.) et Lafon (R.). — Les champignons nuisibles aux semis de maïs. I. Organismes responsables et conditions d'infection. *Ann. Epiph*, **III**, 126, 1957.
(12) Snyder (W. C.) et Hansen (H. N.). — The species concept in *Fusarium* with reference to *discolor* and other sections *Ann. Journ. of Botany*, **32**, 10, 657-666, 1945.
(13) Snyder (W. C.), Hansen (H. N.) et Oswald (J. W.). — Cultivars of the fungus *Fusarium*. *J. Madras Univ.* B. 27, n° 1, Centenary number, 1957.
(14) Messiaen (C. M.) et Lafon (R.). — Les champignons nuisibles aux semis de maïs. II. Essais de traitement de semences. *Ann. Epiph.*, **II**, 253-268, 1957.
(15) Von Arx (J. A.). — Die Arten der Gattung. *Colletotrichum*. Cda. *Phytopath. Z.* Bd29, hft 4, 413-468, 1957.
(16) Lebeau (F. J.). — Pathogenicity studies with *Colletotrichum* from different hosts on sorghum and sugar cane. *Phytopathology*, **40**, 430-438, 1950.
(17) Boning (K.) et Wallner (F.). — Welke, Fusskrankheit und andere Schädigungen an Maïs durch *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wilson. *Phytopath. Zeitchr.*, **IX**, 99-110, 1936.
(18) Messiaen (C. M.). — Sur quelques anthracnoses des plantes cultivées *Ann. Epiph.* **III**, 285-299, 1956.
(19) Stout (G. L.). — New fungi found on the Indian corn lant in Illinois *Mycologia*, **22**, 271-287, 1930.
(20) Moreau (M.). — Le dépérissement des œillets. *Encyclopédie Mycologique*, 30, VIII, 308, 19 pl., 6 diags, 20 graph. Paris, Paul Lechevallier, 1957.
(21) Cain (R. F.). — Studies of *Fungi Imperfecti* I. *Phialophora*. *Canad. Journ. Botany*, **30**, 3, 338-343, 1952.
(22) Singleton (W. R.). — Sucrose in the stalk of maïze inbreds. *Science*, **107**, 174, 1948.
(23) Blanco Gonzales (M.) et Salema Veiguinha (J. L.). — La selección de lineas de maiz de « tallos azucarados » y el rendimiento de sus híbridos en relación al doble aprovechamiento de sus granos y sus plantas. *Agronomia Lusitania*, **17**, (I) 6, 87, 1955.
(24) Hooker (A. L.). — Association of resistance to several seedling, root, stalk and ear diseases in corn. *Phytopathology*, **46**, 379-384, 1956.
(25) Messiaen (C. M.). — Richesse en sucre des tiges de maïs et verse parasitaire. *Rev. Path. Vég. et Entom. Agric.*, XXXVI, **4**, 209-213, 1957.

IDENTIFICATION A PARTIR DE *TRIFOLIUM REPENS* L. D'UN VIRUS PROCHE DU VIRUS DE LA MOSAIQUE JAUNE DU HARICOT *PHASEOLUS VIRUS 2*, SMITH

PAR

J. C. DEVERGNE

Station centrale de Pathologie végétale, Versailles.

PLAN DU MÉMOIRE

I. — Introduction.
II. — Symptomatologie.
III. — Étude au microscope électronique.
IV. — Étude sérologique.
V. — Discussion.
VI. — Conclusion.

I. — INTRODUCTION

ZAUMEYER et WADE décrivaient en 1933, sur le Trèfle blanc (*Trifolium repens* L.) une affection virale occasionnant sur cette plante une mosaïque foliaire, transmissible à de nombreuses légumineuses, parmi lesquelles le Pois cultivé (*Pisum sativum* L.) et le Haricot (*Phaseolus vulgaris* L.).

Ce virus a été décrit par PIERCE sous le nom de « White clover virus 1 », et par WEISS sous celui de « Trifolium virus 1 ».

Il a été montré par la suite, à plusieurs reprises, que les symptômes de mosaïque, observés sur ce trèfle, pouvaient résulter de l'infection de la plante par plusieurs virus s'y développant simultanément :

— Le complexe étudié par F. JOHNSON lui a permis d'isoler deux

virus responsables, distincts, en particulier, par les symptômes qu'ils occasionnent sur le pois cultivé et que l'auteur nomma, de ce fait, virus du « pea mottle » et virus du « pea wilt ».

— Plusieurs études récentes ont, par ailleurs, démontré que des souches des virus de la mosaïque de la Luzerne et de la mosaïque jaune du Haricot (*Phaseolus virus 2*), pouvaient également se trouver réunies chez le Trèfle blanc avec extériorisation de mosaïque.

Le virus type de la mosaïque de la Luzerne a été trouvé par Vita Finzi en Italie, naturellement présent chez *Trifolium repens*. Enfin Roberts note l'existence de trèfle blanc atteint d'une mosaïque imputée au virus de la mosaïque nervienne du trèfle violet (Red clover vein mosaïc virus).

Dans le cadre d'une étude générale des principaux virus affectant les légumineuses, il apparaît donc que le trèfle blanc peut être considéré comme un hôte éventuel pour plusieurs virus dont l'importance se justifie tant par les dégâts qu'ils peuvent occasionner aux plantations mêmes de trèfles, que par ceux affectant les autres légumineuses de culture, le trèfle blanc pouvant alors jouer le rôle de source primaire d'inoculum.

Des exemplaires de *Trifolium repens* L. récoltés dans les environs de Versailles, et présentant de forts symptômes de mosaïque jaune internervienne, nous ont fourni un premier matériel d'étude. Des tests de transmission ainsi que des examens de microscopie électronique et de sérologie, ont permis d'identifier, à partir de ce matériel, une souche qui, par son spectre d'hôte, son aspect morphologique et ses affinités antigéniques, peut être considérée comme appartenant au groupe des virus 2 du Haricot (virus de la mosaïque jaune).

II. — ÉTUDE SYMPTOMATOLOGIQUE

Transmissions mécaniques.

Les suspensions aqueuses brutes provenant du broyage de feuilles mosaïquées de trèfle blanc se sont révélées infectieuses pour de jeunes plants de trèfle, sains, issus de semis, ainsi que vis-à-vis de plusieurs espèces de légumineuses.

Les inoculations mécaniques ont été réalisées par frottement en présence de poudre abrasive de carborandum, selon la méthode de Rawlins et Tomkrins (1936).

Les plantes inoculées étaient placées, soit en serre, soit en plein air, dans une cage réalisée en toile plastique à mailles fines, ne permettant pas le passage éventuel de pucerons infectieux, venant de l'extérieur.

Le virus a pu être transmis par voie mécanique aux espèces suivantes, avec extériorisation de symptômes :

Lathyrus odoratus L., *Medicago hispida* Gaertn, *Phaseolus vulgaris* L., *Pisum sativum* L., *Trifolium hybridum*, *T. incarnatum* L., *T. pratense* L., *T. repens* L., *T. subterraneum* L., *Vicia faba* L., *Vigna sinensis* L. Les symptômes étaient douteux sur *Lathyrus latifolius*.

N'ont pas réagi à l'inoculation, dans les conditions de nos expériences, les Légumineuses : *Dolichos lablab* L., *Lupinus angustifolius* L., L. *luteus*, *Medicago lupulina* L., *M. sativa* L., *Phaseolus coccineus* L., *Vicia villosa* Roth, ainsi que les Solanées : *Datura stramonium*, *Nicotiana glutinosa* L., et *N. tabacum* L. Le Concombre *Cucumis sativus* L. paraît également ne pas être sensible.

Les principaux symptômes sont les suivants :

Trèfles.

Sur jeune Trèfle blanc, issu de semis, les premiers symptômes apparaissent vers le dixième jour suivant la date d'inoculation ; les jeunes feuilles, alors en voie de développement, présentent un net éclaircissement des nervures, bientôt suivi par l'apparition de zones jaunes, plus ou moins brillantes, étroites, allongées dans le sens de la nervation secondaire. Ces zones s'élargissent ensuite pour former de larges bandes jaune vif, quelquefois confluentes. Les folioles sont légèrement boursouflées (fig. 1 *a*). Des plages nécrotiques allongées peuvent également se manifester sur les feuilles âgées, affectant en particulier les nervures principales. Dans le cas d'atteinte grave (en particulier après plusieurs passages successifs sur Trèfles), il peut se développer sur les jeunes feuilles mosaïquées, de petites taches nécrotiques précoces. Il y a, alors, réduction de la taille de la plante, dont le développement est plus ou moins ralenti.

Le trèfle violet réagit après une période d'incubation d'une quinzaine de jours. Il se développe une mosaïque systémique punctiforme, sous la forme de taches jaune pâle, arrondies, très souvent annulaires ; le limbe est par ailleurs irrégulièrement chlorotique ; les symptômes quoique parfaitement visibles sont fugaces (fig. 1 *b*).

Le trèfle souterrain répond également à l'inoculation, par une mosaïque douce assez diffuse.

La réaction du trèfle incarnat est plus marquée : après un éclaircissement très accentué des nervures, il apparaît une mosaïque fine avec déformation des folioles ; sur le limbe chlorotique, se détachent de petites taches vert foncé très nombreuses (fig. 1 *c*) ; le bouquet terminal, se développe mal, prenant un aspect buissonnant ; la plante meurt rapidement

Luzernes.

Tous les essais de transmission mécanique du virus, à la luzerne cultivée, ont échoué. Par contre, après une longue période incubatrice chez l'espèce *M. hispida* Gaertn, il apparaît sur les plus jeunes feuilles

de la plante une mosaïque fine, assez diffuse. La croissance n'est cependant pas affectée. *Medicago lupulina*, héberge également le virus, mais sans symptôme apparent.

Haricots.

Quatre variétés ont été testées : Nain Michelet (Abondance de Perpignan), Idaho Refugee, Valentine rouge, Valentine noire.

Les inoculations ont été faites au stade des deux feuilles cotylédonnaires développées. Les haricots Valentine montrent, au onzième jour, une mosaïque caractérisée sur les feuilles trifoliolées, avec, dans les stades ultérieurs de l'infection, quelques points nécrotiques. Les feuilles cotylédonnaires inoculées, ne présentent pas de symptôme, sinon une chlorose un peu plus précoce que la normale. La variété Idaho Refugee réagit de la même manière, avec une période incubatrice, semble-t-il plus longue. Sur la variété Michelet on observe deux types de symptômes : soit une mosaïque systémique diffuse, soit une réaction nécrotique brutale. Cette réaction nécrotique s'est manifestée dans nos essais avec un pourcentage de 12 plantes nécrosées pour 18 inoculées. Les feuilles cotylédonnaires présentent assez tôt une nécrose accentuée des nervures, avec un aspect en réseau bien caractéristique ; elles se détachent prématurément de la tige (fig. 2 *b*).

En général, une seule feuille trifoliolée se développe ; elle présente bientôt des taches brun-noir, irrégulières, souvent contiguës aux nervures ; il y a enroulement marginal des folioles (fig. 2 *c*). Le pétiole qui noircit et se dessèche, se nécrose tout d'abord au point d'insertion des trois folioles, puis à celui où il s'insère sur la tige ; la feuille entière se flétrit alors et tombe. La seconde feuille trifoliolée n'a pas le temps de se développer complètement ; elle reste petite, déformée et nécrotique ; le point végétatif de la plante meurt à son tour (fig. 2 *a*).

Si la plante ne meurt pas, les bourgeons axillaires peuvent développer secondairement de petits bouquets foliaires, très déformés et fortement chlorotiques, avec des taches irrégulières vert foncé ; ces pousses restent chétives puis souvent se flétrissent à leur tour. L'espèce *P. coccineus* L. ne réagit pas à l'inoculation mécanique.

Pois.

Variétés utilisées : Express Alaska, Aldermann, Miracle, Sénateur, Starcover, Téléphone nain.

Inoculées à un stade jeune de leur développement, toutes les variétés ont leur croissance considérablement ralentie, et restent naines par rapport aux témoins. La plante réagit par ailleurs, par une mosaïque qui

Fig. 1. — Symptômes provoqués par le virus sur diverses légumineuses : *a*) *Trifolium repens* ; *b*) *T. pratense* ; *c*) *Trifolium incarnatum* ; *d*) *Vicia faba* ; *e*) Lésions locales sur *Vigna sinensis*.

FIG. 2. — Réponse du haricot variété « Michelet ». — *a*) nécrose apicale. — *b*) nécrose des nervures sur feuille cotylédonnaire. — *c*) Mosaïque et nécroses sur foliole. — *d*) Mosaïque diffuse.

peut être diffuse, n'affectant pas le végétal entier, ou au contraire très sévère, amenant un flétrissement général. Ce dernier type de symptôme a été remarqué en particulier sur les variétés : Téléphone nain, Aldermann, Miracle.

Sur le Pois de senteur, la réponse est comparable, avec flétrissement du végétal chlorosé.

Une simple chlorose d'origine douteuse, a été observée sur le pois vivace.

Fève.

Variété : Séville.

La fève réagit fortement par une mosaïque systémique sévère (fig. 1 *d*) apparaissant sur toutes les jeunes feuilles se développant après l'inoculation ; le bouquet terminal qui présente des taches irrégulières vert foncé, avec boursouflure des folioles, se développe mal ; la plante peut, consécutivement à l'infection, se nécroser (nécroses noires sur feuilles et tige avec torsion de celle-ci). Il y a alors mort du point végétatif. Des pousses secondaires nées à la base de la plante, donnent au végétal un aspect buissonnant caractéristique.

Des jus bruts, provenant du broyage des feuilles de fèves infectées, inoculés à des trèfles et des haricots sains, ont reproduit les symptômes précédemment décrits sur ces hôtes.

Vigna sinensis.

Variété : black.

Cinq jours après l'inoculation apparaissent sur les feuilles cotylédonnaires inoculées (fig. 1 *c*), de petites lésions locales brun-rougeâtre de 2 à 3 mm de diamètre, qui évoluent peu par la suite ; le reste du limbe devient chlorotique, avec dans les stades âgés de l'infection, de larges plages irrégulières jaune et vert pâle. Les feuilles trifoliolées, qui se développent plus difficilement, sont également chlorotiques.

Des jus provenant de feuilles cotylédonnaires de *Vigna*, ont reproduit sur Trèfle, après inoculation mécanique, les symptômes caractéristiques décrits.

Transmission par insecte-vecteur.

Un essai de transmission par insecte a été réalisé avec le puceron du Pois (*Acyrthosiphon onobrychis*, Harris). Des adultes, récoltés au printemps, dès le mois d'avril, sur de jeunes pousses de Pois de Senteur vivace, *Lathyrus latifolius* L., ont pu transmettre le virus de trèfle à trèfle. La transmission s'effectue sans période d'incubation.

Il n'a pas été envisagé d'essais systématiques de transmission par pucerons sur les autres plantes sensibles.

III. — ÉTUDE AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE

Les examens au microscope électronique ont été réalisés avec un appareil R. C. A., type EMU 3 B (tension accélératrice : 100 kv). Les observations ont essentiellement porté sur des jus bruts, préparés par broyage de feuilles provenant de plantes saines et malades, et clarifiés par une centrifugation unique à faible vitesse ; les échantillons dilués au dixième, et déposés sur une membrane support de carbone, ont reçu un ombrage au palladium, sous un angle d'incidence d'environ 25°.

L'examen de jus de trèfle mosaïqué, a révélé la présence de particules en fins bâtonnets flexueux, d'aspect homogène et en nombre suffisamment élevé, pour qu'on puisse les considérer comme des éléments figurés caractéristiques de la suspension initiale. L'étude comparative d'extraits identiques, réalisés à partir de trèfle sans symptôme, a conduit à la non-existence de ces particules dans les plantes saines.

Les différents hôtes présumés du virus, ayant été testés de cette manière, l'on a retrouvé des particules identiques à celles du trèfle mosaïqué, chez les espèces suivantes, montrant par ailleurs des symptômes : *Lathyrus odoratus, Medicago hispida, Phascolus vulgaris, Pisum sativum, Trifolium incarnatum, T. pratense, T. repens, Vicia faba, Vigna sinensis.*

Il n'y avait pas d'éléments figurés semblables dans les plantes saines correspondantes.

Ces résultats nous permettent de considérer la présence de ces particules dans la plante comme directement liée à celle du virus occasionnant les symptômes ci-dessus décrits.

Parmi les espèces de la gamme d'hôtes envisagés, le plus grand nombre de particules s'est rencontré dans les jus de trèfle blanc, de feuilles cotylédonnaires de *Vigna sinensis*, de Pois de senteur. Le fait que les feuilles trifoliolées de *Vigna* contenaient également les particules caractéristiques, confirme chez cette plante, l'infection systémique du virus, secondairement à la réaction locale.

Une étude morphologique des particules observées a été envisagée à partir de préparations provenant de *Lathyrus odoratus*. Le choix de cet hôte nous a été dicté en raison du grand nombre de particules présentes dans cette plante, et de l'homogénéité morphologique apparente de ces particules. Les mensurations ont donné les résultats suivants, présentés d'autre part sur le schéma graphique ci-contre :

1 — Largeur des particules	environ 11 mμ
2 — Longueur des particules :	
Nombre de particules mesurées.....	380
Maximum de la courbe pour.....	530 mμ
Pourcentage de particules dont la longueur est comprise entre 490 et 560 mμ	71 %
Valeur moyenne de la longueur dans cet intervalle.....	523 mμ

FIG. 3. — Aspect morphologique du virus, dans un extrait infectieux brut de *Lathyrus odoratus* L. × 40 000.

Lors des mensurations des virus 1 et 2 du haricot effectuées par BRANDES et QUANTZ, la longueur moyenne de 750 mμ avait été retenue par les auteurs. La souche envisagée ici est donc représentée chez le pois de senteur par des éléments sensiblement plus courts que ceux étudiés par BRANDES.

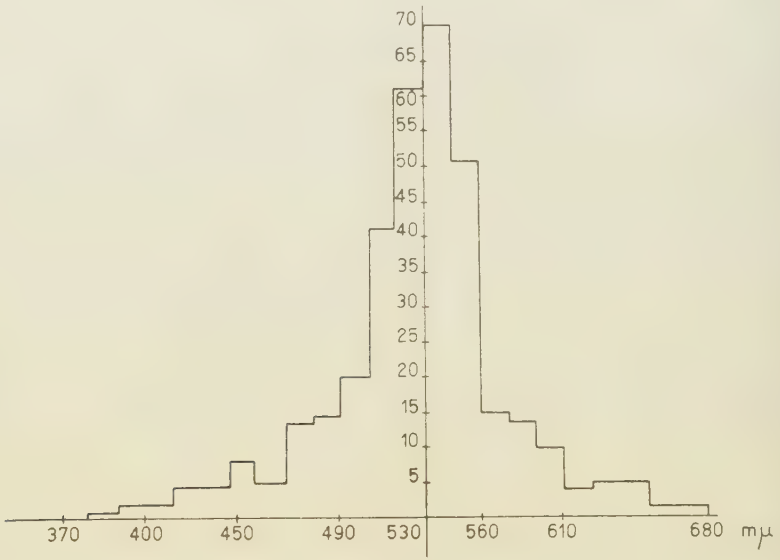


FIG. 4. — Répartition de la longueur des particules dans un extrait infectieux de : *Lathyrus odoratus* L.

IV. — ÉTUDE SÉROLOGIQUE

Un jus infectieux de feuilles cotylédonnaires de *Vigna sinensis* malade, a été injecté à un cobaye, à raison de huit injections intra-musculaires de jus brut (un cm³ tous les deux jours) ; l'animal sacrifié, a fourni un sérum dont l'activité a été testée vis-à-vis des suspensions de virus en provenance de différents hôtes (méthode sur lame). Une floculation abondante a été observée avec des jus de haricot et de *Vigna sinensis*, porteurs de virus ; par ailleurs, il y a eu précipitation en présence de jus infectieux de *Lathyrus odoratus*, *Pisum sativum*, *Vicia faba*, *Trifolium repens*, *T. incarnatum*, et *T. pratense*, alors qu'il n'y avait aucune réaction visible avec les jus sains des espèces correspondantes.

Corrélativement à ces examens, les mêmes hôtes mosaïqués par le virus étudié, ont été testés avec un sérum préparé à partir de *Phaseolus vulgaris*, porteur du virus de la mosaïque jaune. Les résultats ont été comparables à ceux obtenus avec le sérum réalisé à partir du *Vigna*.

On sait que les virus de la mosaique commune et de la mosaique

jaune du haricot, ont des réactions sérologiques croisées et qu'on ne peut les distinguer par cette méthode (Beemster Abr. et Van der Want, J. P. H. 1951). Goodchild a par ailleurs montré qu'il y avait également réaction sérologique croisée pour ces virus et certains virus du Pois.

V. — DISCUSSION

Les premiers virus isolés à partir de *Trifolium repens* (Zaumeyer et Wade, 1933), se caractérisaient en particulier par une réaction à l'inoculation chez la plupart des variétés de Haricots testées, se traduisant à la fois par des lésions locales primaires et par une affection secondaire systémique. Ces virus bien souvent, représentaient en fait des complexes.

Le virus nommé « pea wilt » par F. Johnson (1942) ne donnait qu'une mosaïque légère sur Haricot sans les manifestations nécrotiques que nous avons observées ; seules les réactions du Pois (flétrissement) et du *Vigna sinensis* (lésions locales rougeâtres) rappelent nos résultats.

Enfin, la souche WKV (« Witte klaver virus ») trouvée en Hollande par Oswald (1953) infecte bien les trèfles et le pois, avec extériorisation de symptômes comparables aux nôtres ; par contre les réactions sur Fève (lésions locales brunes) et sur Haricot (réaction locale en anneaux bruns), s'éloignent de ce que nous avons obtenu.

A côté des virus propres au trèfle blanc, des symptômes de mosaïque jaune internervienne ont été à plusieurs reprises imputés à des souches, soit du virus de la mosaïque de la luzerne, soit du virus de la mosaïque jaune du Haricot.

Le spectre d'hôtes des souches du virus de la mosaïque de la luzerne diffère essentiellement de nos résultats ; ces virus :

a) infectent le tabac et parfois d'autres Solanées ;

b) provoquent chez le Haricot, sur les feuilles cotylédonnaires inoculées, une réaction locale, sous forme de petites lésions circulaires caractéristiques.

C'est en particulier le cas d'un virus du trèfle blanc décrit par E. M. Johnson (1946), du virus du « Yellow patch » (= *Marmor medicaginis* var. Ladino) de Keitlow et Price (1949) et retrouvé en 1950 par Oswald, enfin de deux souches « à lésions locales » et « systémique » reconnues sur le même hôte par Houston et Oswald (1953).

Les manifestations obtenues sur *Phaseolus vulgaris*, avec le virus étudié ici, rappellent par contre, un certain nombre de symptômes précédemment décrits, et en rapport avec l'infection par des souches du virus 2 du haricot : La mort de l'épicotyle avec, secondairement, apparition de jeunes pousses fortement mosaïquées et déformées, avait été remarquée

par PIERCE en 1934 sur la variété Mexican Tree, inoculée avec le virus 2. Les souches dénommées « X-strain » par MCWHORTER en 1946 et « Pod distorting strain » par GROGAN et WALKER en 1948, provoquent également, sur plusieurs variétés, une nécrose du sommet. Ces deux virus infectent le trèfle incarnat et le pois cultivé, mais seule la souche de MC WORTHER donne des symptômes sur la Fève, et le Trèfle des prés ; quant au Trèfle blanc, il ne semble pas entrer dans le spectre d'hôtes de ces deux virus.

C'est au contraire à partir de *Trifolium repens* (var. Ladino) qu'HOUSTON et OSWALD (1953) isolent une souche nécrotique qui, sur haricot rappelle les symptômes dus au « pod distorting » de GROGAN : affection systémique nécrotique avec brunissement des folioles, nécrose nervienne tardive sur feuilles cotylédonnaires. Le virus infecte *Vicia faba* qui montre une forte mosaïque jaune. Cette souche ne serait pas sans affinité avec le virus étudié.

La réaction observée par ailleurs sur Pois cultivé, fait songer à une souche isolée en 1950 par HAGEDORN et WALKER, sur des pois fortement rabougris par l'infection de ce virus ; l'auteur considère qu'il s'agit d'une souche 1 du virus de la mosaïque jaune du Haricot ; la nécrose des nervures et le « streak » sur pétioles et tiges, observés chez la variété Stringless blue lake, rejoignent les symptômes déjà décrits. Si le virus ne semble pas infecter le trèfle blanc, il provoque cependant des réactions chlorotiques sur les trèfles violet, hybride et incarnat ; un nanisme très accentué avec folioles crispées, peut être comparé sur ce dernier hôte, avec les symptômes que nous avons obtenus.

Pour retrouver une réponse locale sur *Vigna sinensis*, il faut enfin faire appel à une souche nécrotique décrite en 1953 par ZAUMEYER et FISHER ; la plante réagit tout d'abord par de petites lésions brunes, puis par une mosaïque systémique sur feuilles trifoliolées ; inoculée au haricot, cette souche donne, par ailleurs, une nécrose des nervures. Cependant la fève et le tabac répondent par lésions locales, ce que n'ont jamais donné nos essais.

Nous donnons ci-après un *tableau* comparatif simplifié des caractéristiques symptomatologiques de quelques-unes de ces souches.

VI. — CONCLUSION

Le Trèfle blanc (*Trifolium repens* L.) présente fréquemment une forte mosaïque jaune internervienne dont la nature virale est démontrée. Etant donné que cette plante hôte, à caractère vivace, est largement répandue, on peut la considérer comme un réservoir permanent du (ou des) virus à l'origine de ces symptômes.

Des essais de transmission mécanique ont permis d'isoler à partir de ce matériel, une souche dont l'importance se justifie en particulier

Tableau comparatif de quelques souches nécrotiques du Phaseolus virus 2 *Smith.*

	« *X-Strain* » Mc. WHORTHER, BOYLE 1946	« *Pod distoring strain* » - GROGAN, WALKER 1948.	« *Necrotic lesion strain* ». ZAUMEYER, FISCHER. 1953	« *Necrotic strain* » HOUSTON, OSWALD 1953.	Souche étudiée.
Phaseolus vulgaris L.	Mosaïque et nécrose apicale.	Mosaïque - Déformations foliaires Nécrose apicale.	Nécroses locales ou Mosaïque (ou les deux).	Mosaïque jaune et nécrose apicale.	Nécrose apicale Mosaïque.
Pisum sativum L.	Mosaïque	Mosaïque- Éclaircissement des nervures. (o sur Perfection)	o		Mosaïque et Flétrissement
Trifolium incarnatum L.	Mosaïque	Mosaïque Eclaircissement des nervures.	o		Mosaïque avec déformation foliaire, nanisme.
Trifolium pratense L.	Mosaïque	o	o		Faible mosaïque taches annulaires
Trifolium repens L.		o	o	Mosaïque	Mosaïque nervienne
Vicia faba L.	Mosaïque	o	Lésions locales brun-rouge, Nécrose.	Forte mosaïque jaune vif.	Mosaïque et nécrose de la tige.
Vigna sinensis L.			Lésions locales et faibles mosaïque.		Lésions locales et chlorose systémique.
Nicotiana tabacum L.		o	Lésions blanchâtres.	o	o

par les symptômes graves qu'elle est susceptible de provoquer chez plusieurs Légumineuses cultivées, dont le Pois et le Haricot.

La présence du virus se caractérise notamment par les symptômes suivants :

1. — Réaction nécrotique de plusieurs variétés de Haricot.
2. — Flétrissement avec mosaïque chez le Pois cultivé.
3. — Lésions locales avec chlorose systémique chez *Vigna sinensis*.

Si le virus infecte l'espèce *Medicago hispida*, il n'affecte pas la Luzerne cultivée ; il ne donne aucun symptôme sur le Tabac.

Certaines de ces manifestations rappellent les symptômes occasionnés par des souches du virus de la mosaïque jaune du Haricot (*Phaseolus virus 2*) ; le virus est proche, en particulier, de la souche nécrotique décrite en 1953 par HOUSTON et OSWALD, à partir du même trèfle.

Une étude sérologique a permis de considérer la souche étudiée comme appartenant au groupe sérologique des virus des mosaïques du Haricot.

Morphologiquement enfin, le virus se présente sous forme de bâtonnets flexueux de 11 mμ de large environ, et de longueur moyenne 530 mμ. Par ses dimensions, il diffère donc sensiblement du virus type de la mosaïque jaune du Haricot.

Il est important de souligner le rôle possible que pourrait jouer le Trèfle blanc, espèce vivace largement répandue, dans la conservation de certains virus particulièrement néfastes aux légumineuses : cette étude nous en donne un exemple. Il est vraisemblable, qu'en France également, et à l'image de ce qui a été montré dans plusieurs pays voisins, des espèces végétales spontanées ou subspontanées, parmi lesquelles les trèfles et les luzernes doivent jouer un rôle prépondérant, constituent une source primaire importante d'agents pathogènes de ce type.

Reçu pour publication le 13 *juin* 1959.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BEEMSTER (A. B.) et VAN DER WANT (J. P. H.). — Serological investigations on the *Phaseolus* viruses 1 and 2. *Antonie van Leuwenhock Jour. microbiol.* vol. **17**, 285-296, 1951.

BRANDES (J.) et QUANTZ (H.). — Elektronenmikroskopische, Untersuchungen uber *Phaseolus* virus 1 und *Phaseolus* virus 2. *Naturwissenschaften* 42-583, 1955.

FENNE (S. B.). — Severe virus disease on Ladino clover in Virginia. *Plant Dis. Reporter* 36-491, 1952.

GOODCHILD (D. J.). — Relationships of legumes viruses in Australia. I — Strains of bean yellow mosaic virus and pea mosaic virus. *Australian. Jour. Biol. Sci.* 9, 213-230, 1956.

GROGAN (R. G.) et WALKER (J. C.). — A pod distorting strain of the yellow mosaic virus of bean. *Journ. of Agri. Res.* (U. S.), **77**, 301-314, 1948.
HAGEDORN (D. J.) et WALKER (J. C.). — The relation of bean virus 2 to pea mosaic in Wisconsin. *Phytopath.* **40**, 684-698, 1950.
HOUSTON (B. R.) et OSWALD (H. W.). — The mosaic virus complex of Ladino clover. *Phytopath.* **43**, 271-276, 1953.
JOHNSON (E. M.). — Two legumes viruses transmissible to tobacco. *Phytopath.* **6**, 142-147, 1948.
JOHNSON (F.). — The complex nature of white clover mosaic. *Phytopath.* **32**, 103-116, 1942.
KEITLOW (K. W.). — Virus diseases of grassland crops. *Plant. Dis. Reporter.* **29**, 342, 1955.
KEITLOW (K. W.) et PRICE (W. C.). — A new virus disease of Ladino clover. *Phytopath.* **39**, 517-527, 1949.
KEITLOW (K. W.), HUNT (O. J.) et WILKINS (H. C.). — The effect of virus infection on yield and chemical composition of Ladino clover. *Phytopath.* **40**, 390-394, 1957.c
MC WHORTER (F. P.) et BOYLE (L.). — X. disease and other forms of yellow bean mosaic in Western Oregon. *Oreg. Agr. Expt. Sta. Circ. of Inform.* n° 379, 1946.
OSWALD (J. W.). — A strain of the alfalfa mosaic virus causing vine and tuber necrosis in potato. *Phytopath.* **40**, 973-991, 1950.
PIERCE (W. H.). — The identification of certain viruses affecting leguminous plants. *Journ. Agr. Res.* (U. S.), **21**, 1017-1039, 1935.
ROBERTS (D. A.). — Natural infection of Ladino clover by the red clover vein mosaic virus. *Plant. Dis. Reporter*, **41**, 928-929, 1957.
ROBERTS (D. A.), KEITLOW (K. W.) et PRICE (W. C.). — Influence of alfalfa mosaic virus upon winter hardiness of Ladino clover. *Phytopath.* **47**, 24, 1956.
VAN DER WANT (J. P. H.). — Onderzoekingen over virus ziekten van de boon, (*Phaseolus vulgaris* L) *Instituut voor. plantz-onderz.* N° 85, 1954.
VITA-FINZI (G.). — Di una virosi del *Trifolium repens* prodotta dal virus del mosaico dell'erba medica. *Ann. Sperm. Agrar.* Roma, 1956.
WEISS (F.). — A key to typical viruses of leguminous crops. *Plant. Dis., Reporter*, **23**, 352-361, 1939.
ZAUMEYER (W. J.) and FISHER (H. M.). — A new necrotic lesion producing strain of yellow bean mosaic. *Phytopath.*, **43**, 45-49, 1953.
ZAUMEYER (W. J.) and WADE (B. L.). — Mosaic diseases affecting legumes in relation to beans and peas. *Phytopath.*, **23**, 562-564, 1953.

QUELQUES PARTICULARITÉS DU CYCLE ÉVOLUTIF DES CECIDOMYIES

LA DIAPAUSE PROLONGÉE DES LARVES ET L'APPARITION DIFFÉRÉE DES IMAGOS

PAR

R. COUTIN

Station centrale de Zoologie agricole, Versailles.

Des études antérieures de BARNES, de LEEFMANS, ont mis en évidence un phénomène qui paraît très répandu chez les Cécidomyies : une diapause larvaire de durée plus ou moins longue.

Les faits d'observations sont les suivants : pour plusieurs espèces, parmi les larves collectées à la fin de leur période de croissance, toutes ne se nymphosent pas à l'époque habituelle pour donner des imagos et clore le cycle annuel. Mais une certaine proportion d'entre elles restent à ce stade de larve une année de plus, parfois plusieurs années. Il en résulte une succession de sorties d'imagos, échelonnée sur plusieurs cycles biologiques de l'espèce, souvent difficiles à prévoir, et qui peuvent être la cause de pullulations soudaines. C'est aussi une assurance du maintien de l'espèce s'il se produit fortuitement des conditions défavorables à sa multiplication. Ce phénomène a été observé aussi bien chez des espèces polyvoltines comme *Dasyneura alpestris* KIEF. (1), *Dasyneura pyri* BOUCHE (2), *Contarinia nasturtii* KIEF (10), *Contarinia pisi* WIN. que chez des espèces univoltines : *Contarinia tritici* KIRBY et *Sitodiplosis mosellana* GEHIN (3-4).

L'objet du présent travail est d'étudier le caractère de cette prolongation de la vie larvaire sur trois espèces du genre *Contarinia* qui se développent aux dépens d'organes floraux : *C. pyrivora* RILEY, *C. pruniflorum* COUTIN et RAMBIER, espèces univoltines et *C. medicaginis* KIEF. polyvoltine. Le phénomène affecte aussi, dans une moindre mesure, leurs parasites.

Protocole expérimental [1].

a) Le regroupement de fleurs attaquées sur des emplacements déterminés permet de concentrer sur une petite surface un très grand nombre de larves. Une cage disposée en temps utile recueille les imagos au fur et à mesure de leur apparition. On peut alors calculer à partir des insectes recueillis, hôtes et parasites, la proportion annuelle des sorties.

b) Pour analyser plus finement les différents stades de l'évolution d'une population, on procède d'abord à la collecte d'organes attaqués.

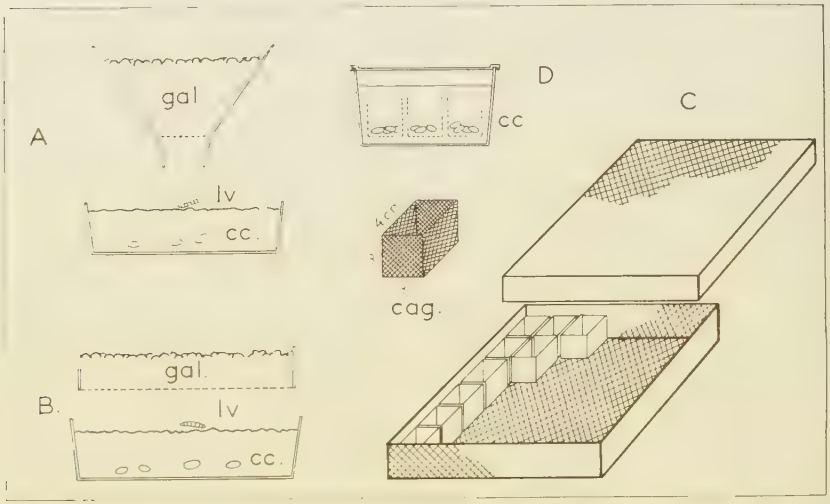


Fig. 1. — Dispositif expérimental de collecte des larves et de conservation des cocons de Cécidomyies.
A, B = deux dispositifs de collecte des larves, leur permettant de sortir des galles, et de tisser leur cocon dans un sol tamisé.
C = groupes de cagettes renfermant des cocons et conservées sous terre dans la nature.
D = cagettes dans une boîte d'expérience rentrée au laboratoire.
cag. : cagettes, cc : cocons, gal : galles, lv : larves.

Puis on les dispose dans un récipient muni d'un grillage à larges mailles à la partie inférieure. Les larves quittent les galles, descendent et traversent le grillage pour tomber dans une cuve garnie d'une terre appropriée, tamisée au tamis n° 20. Dix jours après la descente des larves, cette terre est passée au même tamis, pour recueillir les cocons. Ceux-ci sont alors groupés par 100 dans des cagettes grillagées au milieu de cette même terre à fines particules.

Les cagettes contenues dans un grand cadre de grillage, sont conservées enfouies dans le sol à 7-8 cm de profondeur (fig. 1). Il est ainsi facile de procéder à des examens périodiques du contenu des cagettes

[1] Expériences réalisées avec l'assistance technique de G. Dusaussoy.

pour suivre l'évolution des individus d'une population soumise aux conditions naturelles.

c) Ces mêmes cagettes peuvent être facilement rentrées au laboratoire afin de soumettre les insectes à des conditions bien définies de température sans manipulation supplémentaire.

CECIDOMYIE DES POIRETTES (Contarinia pyrivora RILEY)

Cette espèce univoltine est inféodée strictement au Poirier. L'apparition des imagos se produit toujours à une période printanière qui correspond à certains stades d'évolution des bourgeons à fleurs (5). Les imagos des parasites sortent quelques jours plus tard. Le comportement de ponte des femelles est lié aux possibilités d'infestation des fleurs. Ces relations d'ordre phénologique constituent un exemple classique d'ajustement entre l'insecte et sa plante-hôte.

1. — Sorties différées des imagos dans la nature.

Une série d'essais qui ont duré six années a permis de chiffrer la proportion d'imagos apparus après 1 hiver et 2 hivers.

La plus grande partie des larves en diapause ne passent qu'un hiver dans le sol. Une seule fois quelques imagos ont été observés après 3 hivers (tableau I).

TABLEAU I

Sorties des imagos de C. pyrivora (*C. p.*) *et de ses parasites* (*Par.*) (*proportion en p.* 100).

Années	1947	1948	1949	1950	1951	1952
Larves de 1947 :						
C. p.	—	80	19,2	0,8		
Par.	—	92,5	7,5			
1948 :						
C. p.		—	86	14		
Par.		—	87	13		
1949 :						
C. p.				—	77	23
Par.				—	?	?

On n'observe pas de rupture des relations phénologiques lors de la sortie des imagos provenant des larves qui ont subi une diapause. Les plus importantes de ces sorties sont en coïncidence avec le stade « E » défini par FLECKINGER (9) (tableau II).

TABLEAU II

Sorties de C. pyrivora *et d'*Inostemma pyricola *dans une cage en* 1948 *et* 1949, *après un enfouissement des larves effectué en* 1947 *par rapport au stade « E » de* FLECKINGER. (var. P. Crassane)

Dates	Mars													Avril				
	15	16	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	1	2	3	4	5
1948																			
Stade "E"					"E"														
C. pyr.	12	7	41	206	345	280	170	130	220	195	205	95	2						
I. pyr.					6	25	30	15	30	157	83	60	8						
1949																			
Stade "E"												"E"							
C. pyr.								5	12	23	43	17	14	60	142	90	36	6	19
I. pyr.....								5	8	9	11								

2. — Évolution d'une population de larves de Contarinia pyrivora dans la nature.

Peu après leur enfouissement les larves tissent leur cocon constitué d'une soie grossière qui agglomère des particules terreuses. Un premier examen du contenu des cocons dans le mois suivant permet déjà de déter-

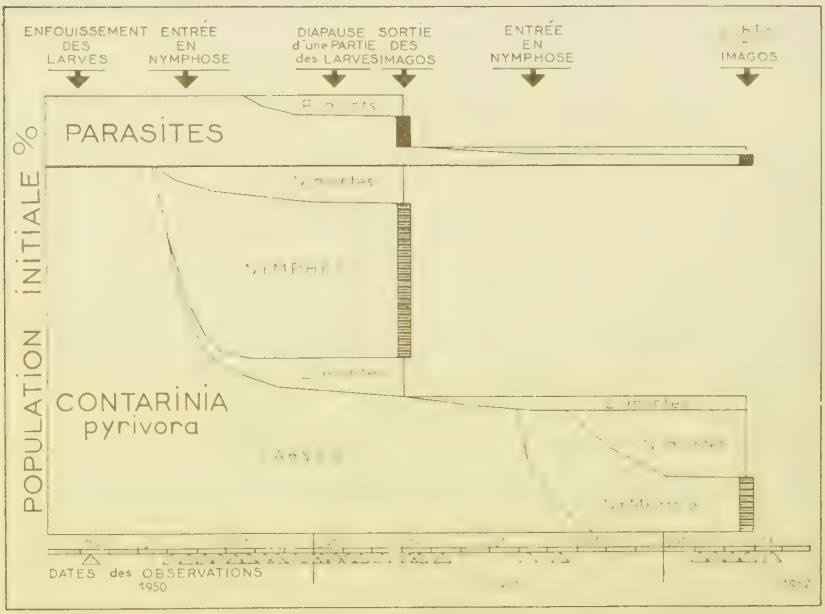


FIG. 2. — Schéma résumant l'évolution d'une population de larves de *Contarinia pyrivora* durant trois années consécutives.

miner le pourcentage de parasitisme (fig. 2). La nymphose des larves qui ne restent pas en diapause commence dans le courant du mois d'août (11) et se poursuit jusqu'au mois d'octobre pour se fixer à son niveau définitif à ce moment. On observe une certaine mortalité parmi les nymphes et parmi les larves en diapause. Celles-ci se nymphosent à leur tour à partir du mois d'août de la seconde année. Une mortalité plus importante semble survenir avant la sortie des imagos de deuxième année.

3. — Évolution de populations de larves au laboratoire sous l'influence de températures constantes.

Plusieurs séries de cagettes renfermant chacune 100 cocons ont été placées en étuve à des températures constantes de 5°, 10°, 15°, 20°, 25° et 30°, et maintenues dans ces conditions durant deux années.

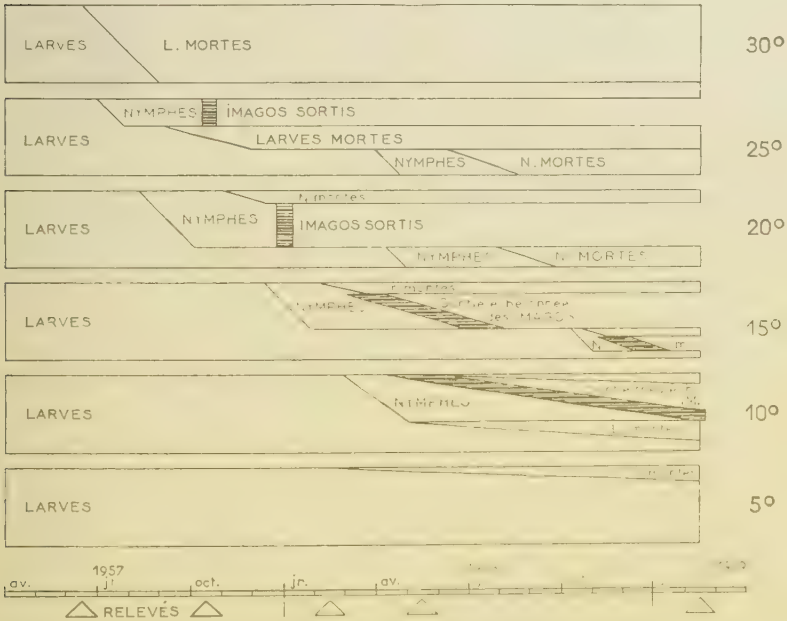


FIG. 3. — Schéma résumant l'évolution de populations de larves de *Contarinia pyrivora* soumises, après le tissage des cocons dans le sol à diverses températures constantes.

Des examens ont été faits après chaque période importante du cycle normal dans la nature, c'est-à-dire après nymphose et l'entrée en diapause d'une partie des individus, avant la sortie des imagos, etc...

D'après les résultats obtenus, il semble qu'aucun phénomène important du cycle évolutif de cette espèce n'ait été profondément modifié

(fig. 3). La température de 30° amena la mort rapide des larves en quelques semaines. Celle de 5° a été insuffisante pour qu'aucune nymphose se produise en deux ans. Celle de 10° l'a retardée considérablement, les imagos sont alors apparus d'une façon très échelonnée ; lors du dernier examen, sous l'influence de la température plus élevée du laboratoire, les nymphes sortaient des cocons, plusieurs imagos sont même apparus, ont normalement effectué leur mue imaginale, étalé leurs ailes et leurs pattes, puis se sont envolés.

CECIDOMYIE DES FLEURS DE PRUNIER
(**Contarinia pruniflorum** COUTIN et RAMBIER).

Cette espèce univoltine effectue son développement larvaire à l'intérieur des fleurs des *Prunus* avant la floraison. Les larves empêchent par leur présence l'épanouissement des fleurs, provoquent une légère déformation des pièces du périanthe et surtout des organes reproducteurs. L'ovaire se nécrose et demeure infertile. L'apparition des imagos est extrêmement rapide et de courte durée, elle se produit à une période bien déterminée qui correspond à certains stades de végétation bien précis des organes floraux du Prunier (7).

Comme pour *C. pyrivora* tous les individus formant une population homogène de larves ne se nymphosent pas au mois de septembre de l'année de leur enfouissement. Une certaine proportion d'entre elles passe un hiver dans leurs cocons pour ne se nymphoser qu'en septembre de la seconde année. On n'a pas observé de diapause plus longue. Sous cage, dans la nature, on a recueilli successivement d'une même population d'origine : 83,5 p. 100 d'imagos la première année et 16,5 p. 100 la seconde année. Les larves provenaient de fleurs attaquées de la variété de Prunier « Royale de Montauban ». Ces proportions varient selon l'année et l'origine de la population (Prunier cultivé, *Prunus spinosa* etc..).

On peut conclure après l'étude de l'évolution des populations de cette Cécidomyie à la très grande similitude biologique entre *C. pruniflorum* et *C. pyrivora* (fig. 4 et 2). Les deux parasites de *C. pruniflorum* n'hivernent pas au même stade : *Synopeas* sp. est au stade imago dès le mois de septembre, *Gastrancistrus pacilus* WALK hiverne au stade nymphal, et forme ses imagos peu de temps avant leur sortie.

CECIDOMYIE DES FLEURS DE LUZERNE
(**Contarinia medicaginis** KIEFFER).

La Cécidomyie des fleurs de luzerne est une espèce polyvoltine qui passe l'hiver à l'état de larves dans leurs cocons sous terre. La nymphose se produit au printemps dans le courant du mois de mai (6). A chaque

génération une proportion très variable de larves poursuit son évolution, se nymphose et donne naissance aux imagos qui engendrent alors la génération suivante. Les autres larves entrent en diapause et ne pour-

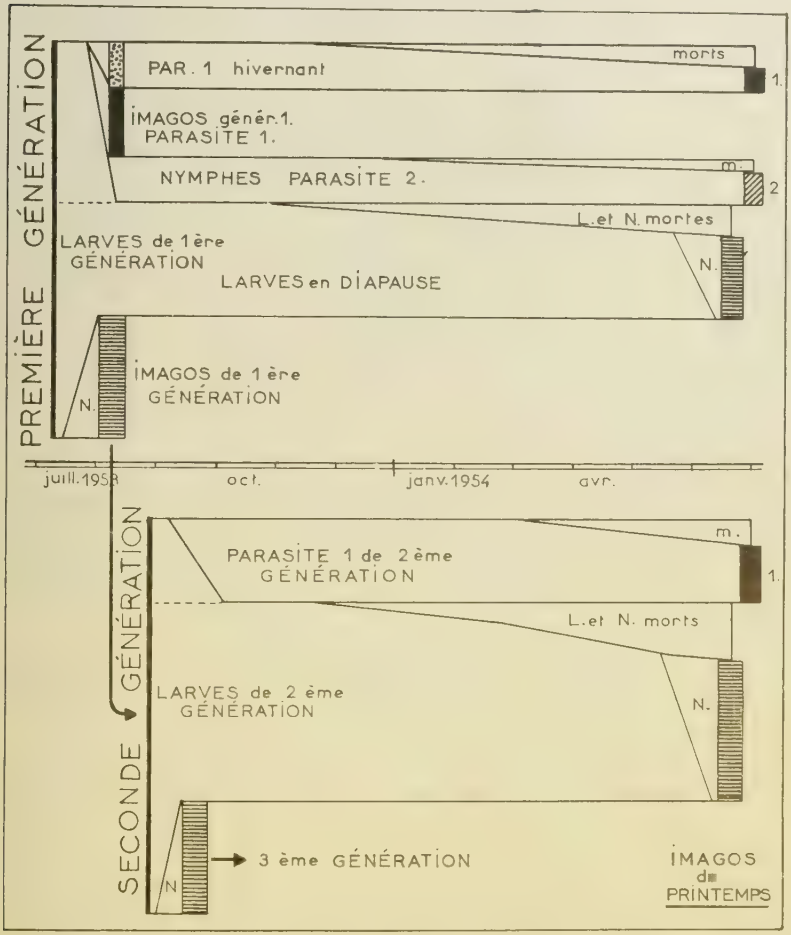


FIG. 4. — Schéma résumant l'évolution d'une population printanière initiale de larves de première génération de *Contarinia medicaginis*.

suivent leur évolution que l'année suivante. Leur proportion augmente à chaque génération.

Il n'a pas été possible d'établir à partir de quelle date les larves de seconde génération sortent de diapause et sont aptes, sous l'influence de conditions thermiques favorables, à se transformer en nymphes. En effet

des larves en cocon, conservées dans la nature et rentrées à 25° tous les mois à partir du 7 décembre, se sont nymphosées et ont donné des imagos dans des délais de plus en plus courts au fur et à mesure que l'on se rapprochait de la période normale de nymphose dans les conditions naturelles (fig. 5). L'élimination de la diapause serait donc antérieure à la période hivernale.

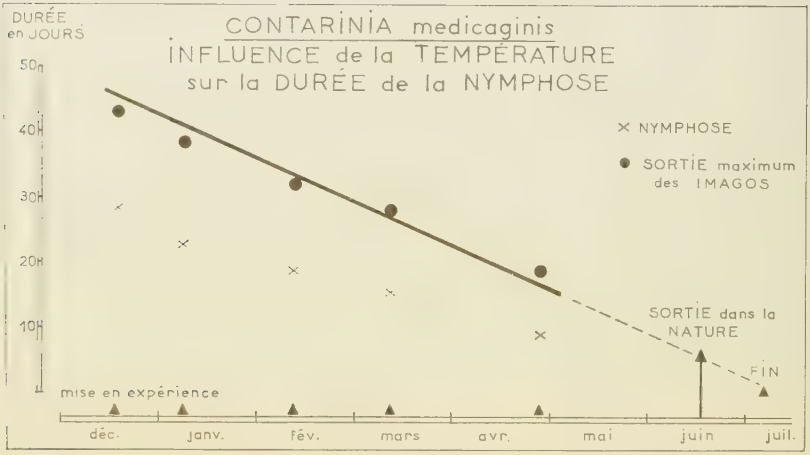


FIG. 5. — Courbe mettant en évidence à différentes périodes l'influence d'une même température sur la durée de la nymphose et l'apparition des imagos de *Contarinia medicaginis*

Chez *Dasyneura pyri* BOUCHE (2) toutes les larves de première génération se nymphosent et donnent des imagos en cours d'été. L'entrée en diapause ne s'observe que pour des larves de seconde génération. Ce qui n'est pas le cas pour *C. medicaginis*. Il est possible que cette différence soit due au fait que *D. pyri* a un cycle annuel de développement qui commence très tôt en saison (avril-mai) alors que les imagos de printemps de *C. medicaginis* qui engendrent la première génération ne pondent pas avant le début de juin.

La diapause larvaire chez *C. medicaginis* est d'une courte durée, elle n'affecte pas, semble-t-il, les larves plus d'une saison. Après un hiver toutes larves provenant des générations successives de l'année précédente se nymphosent dans le courant du mois de mai. Cette diapause présente donc chez les espèces polyvoltines un caractère différent qu'il serait nécessaire d'étudier de plus près. Des constatations analogues ont été faites sur *Contarinia nasturtii* KIEFFER (10).

L'examen périodique du contenu des cagettes de cocons de *C. medicaginis* apporte d'utiles précisions sur le cycle évolutif d'une espèce polyvoltine (fig. 6) et sur celui de ses parasites. Le parasitisme des larves

de première génération est plus important que celui des larves de seconde génération du fait que le parasite *Omphale variipes* THOM. n'a qu'une génération par an, alors qu'*Inostemma opacum* THOM. en présente deux.

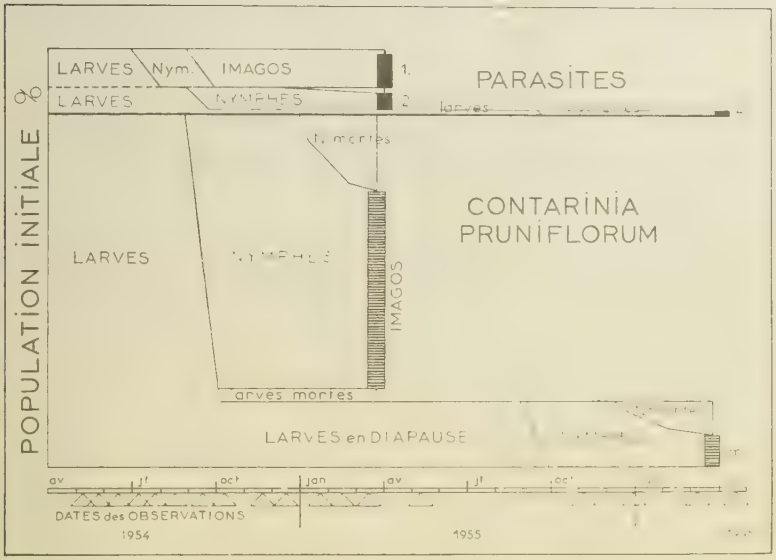


FIG. 6. — Schéma résumant l'évolution d'une population de larves de *Contarinia pruniflorum* durant trois années consécutives.

CONCLUSIONS

La prolongation de la vie larvaire est un phénomène de diapause assez fréquent chez les insectes et qui semble la règle pour de nombreuses espèces de Cécidomyies phytophages nuisibles aux végétaux cultivés. Chez les espèces polyvoltines la proportion de larves qui entrent en diapause est d'autant plus grande que l'on s'adresse aux dernières générations qui peuvent se développer dans l'année. On pourrait penser que les facteurs climatiques de moins en moins favorables provoquent peu à peu une augmentation de la proportion des larves qui entrent en diapause. Mais ce n'est là qu'une simple hypothèse. Par contre chez les Cécidomyies univoltines on a montré expérimentalement qu'il s'agissait d'une diapause certaine que les facteurs abiotiques, pourtant favorables, ne pouvaient modifier. Néanmoins pour *C. pyrivora* et *C. nasturtii* on n'a jamais observé de diapause aussi longue que celle décrite par BARNES sur *Sitodiplosis mosellana* GEHIN (3-4).

Lorsque la diapause est éliminée les facteurs externes exercent leur influence normale. Les observations ont montré aussi que la diapause n'affectait pas les rapports phénologiques entre l'Insecte et sa Plante-Hôte.

Reçu pour publication le 17 *juin* 1959.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) Barnes (H. F.). — Studies of fluctuations in insect populations IV The Arabis midge *Dasyneura arabis* (Cecidomyidae). *J. Anim. Ecol.*, **4**, 119-126, 1935.
(2) Barnes (H. F.). — V. The leaf-curling pear midge *Dasyneura pyri* (Cecidomyidae). *J. Anim. Ecol.*, **4**, 244-253, 1935.
(3) Barnes (H. F.). — X. Prolonged larvae life and delayed subsequent emergence of the adult gall midge. *J. Anim. Ecol.* **12**, 137-138, 1943.
(4) Barnes (H. F.). — XII. Further evidence of prolonged larvae life in the wheat blossom midge. *Ann. Appl. Biol.*, **39**, 370-373, 1952.
(5) Coutin (R.). - La Cécidomyie des poirettes (*Contarinia pyrivora* Riley) dans ses rapports phénologiques avec le poirier. *Trans. IX. Int. Cong. Ent.*, **1**, 601-606, 1952.
(6) Coutin (R.). — La Cécidomyie des fleurs de luzerne *C. medicaginis* Kieffer. La Défense des végétaux n° 56., 3-9, 1956.
(7) Coutin (R.) et Rambier (A.). — Description d'une nouvelle Cécidomyie sur les fleurs des Prunus (*Contarinia pruniflorum* n. sp.) et ses princi paux caractères biologiques. *Bull. Soc. Ent. Fr.*, **60**, 104-110, 1955.
(8) Coutin (R.) et Arnoux (J.). — Les fluctuations de population de deux Cécidomyies du blé en Angleterre. *B. T. I. n°* 86, 45-48, 1954.
(9) Fleckinger (J.). — Notations phénologiques et représentations graphiques du développement des bourgeons floraux du poirier. C. R. Congrès A. F. A. S. Paris, 15 p. 1945.
(10) Leefmans (S.). — De draaihartigheid bij Kool II Meded. Tuinb. voorlichtingsdienst n° 5 — 42 p. La Haye. (R. A. E. 26-466), 1938.
(11) Wehrle (L. P.). — Notes on the Pear midge (*C. pyrivora* Riley) *J. Ec. Ent.* **17**, 411-414, 1924.

PHYSIOLOGIE DU VER A SOIE

PAR

J. M. LEGAY
Station de Recherches séricicoles, Alès.

PLAN DU MÉMOIRE

INTRODUCTION

Chapitre I

ÉLÉMENTS DE MORPHOLOGIE ET D'ANATOMIE

L'œuf.
La chenille.
La chrysalide.
Le papillon.

Chapitre II

LE CYCLE DE DÉVELOPPEMENT

La naissance.
La croissance.
Les mues.
La métamorphose.
La diapause.
La mort.

Chapitre III

LES FONCTIONS DE NUTRITION

L'alimentation.
L'excrétion.
La circulation.
La respiration.
Le métabolisme.

Chapitre IV

LA SÉCRÉTION DE LA SOIE

L'appareil séricigène.
La sécrétion de la soie.

CHAPITRE V

LES FONCTIONS DE REPRODUCTION

L'origine et la formation des organes génitaux.
La gamétogénèse.
La fécondation.
La ponte.
Le développement embryonnaire.

CHAPITRE VI

PHYSIOLOGIE ET GÉNÉTIQUE

La variabilité des caractères.
L'hérédité des caractères.

INTRODUCTION

La soie correspond, zoologiquement parlant, à toute matière de nature protéique émise par un animal à l'état de fil, celui-ci se solidifiant dès sa sortie à l'extérieur.

On trouve des exemples de production de soie dans l'ensemble du règne animal, mais surtout dans certains groupes, comme les Mollusques et les Arthropodes. Et parmi ces derniers, ce sont les Arachnides et les Insectes qui offrent les cas les plus remarquables.

Chez les Insectes, la soie est fabriquée, selon les espèces, par des organes très variés : glandes séricigènes des pattes (Embie), tubes de Malpighi (Phytonome de la luzerne), glandes salivaires modifiées (chenilles), glandes accessoires de l'appareil génital femelle (Chrysope), rectum (Fourmilion), cellules hypodermiques (Cochenilles)... Même chez les Lépidoptères, où la sécrétion de soie est la plus abondante, cette soie n'est pas toujours utilisable. En effet, certaines chenilles gaspillent leur soie tout au long de leur vie, tandis que d'autres ne la rejettent de façon massive qu'à la fin de leur développement sous la forme d'un cocon. Encore faut-il que le fil de ce cocon présente certaines propriétés physico-chimiques (élasticité, résistance, insolubilité, etc.) permettant son utilisation par l'Homme.

C'est ainsi que parmi les Lépidoptères sericigènes appartenant aux trois familles des Saturnides, des Bombycides et des Lasiocampides, seul le *Bombyx mori* (Bombyx du mûrier) s'est révélé présenter un intérêt économique de premier plan. Ses avantages apparurent très tôt à l'Homme qui devait en faire un animal domestique, le seul parmi les Insectes. Comme la plupart des animaux domestiques, on ne le trouve plus à l'état sauvage ; et dans la nature, on rencontre seulement en divers points d'Extrême-Orient un proche parent de son ancêtre, le *Theophila mandarina*. Mais il y a loin de ce dernier avec son maigre cocon de quelques dizaines de milligrammes au *Bombyx mori* actuel qui nous donne plus de 1500 mètres de fil et près d'un gramme de soie. Entre ces deux états s'est inséré le travail patient de sélection de plusieurs millénaires.

L'élevage des chenilles de *Bombyx mori* est si ancien et si populaire dans la plupart des pays du monde qu'on désigne généralement l'animal d'un nom

vulgaire, zoologiquement impropre, mais communément employé ; en France, on parle du Ver à soie.

L'histoire biologique du Ver à soie commence par un œuf. La papillonne vient de le pondre. Il est dur, jaune, elliptique et mesure un peu plus d'un millimètre. Sa couleur change progressivement et s'arrête finalement au gris lilas au bout d'une semaine ; pendant ce temps à l'intérieur de la coque, les premiers stades embryonnaires se sont déroulés. Puis le jeune embryon tombe en vie latente, en diapause, et ne reprend son activité que neuf mois plus tard, après le froid de l'hiver. La fin du développement embryonnaire se déroule rapidement (15 jours à la température de 22° C), et la jeune larve sort de l'œuf, un matin de printemps, après avoir rongé un morceau de sa coque.

Quelques heures après l'éclosion, le petit Ver (un demi milligramme !) dévore la feuille de Mûrier et commence une croissance vertigineuse, interrompue seulement quelques heures à chacune des quatre mues. Après trente jours, la chenille atteint un poids souvent supérieur à 4 g, soit plus de 8 000 fois son poids de naissance ; elle est « mûre », sa peau devient légèrement transparente, et son humeur vagabonde. Elle monte alors sur n'importe quel support rencontré, vide son tube digestif et commence à émettre sa soie. Si l'endroit est favorable, la chenille tisse alors un cocon, où elle s'enferme en se recroquevillant progressivement. Peu de temps après la fin du filage, la chenille effectue à l'intérieur de ce cocon une mue particulière, d'où sort la chrysalide.

La vie nymphale, pendant laquelle se réorganise presque complètement l'anatomie interne de l'animal, dure 15 jours. Pour émerger, le papillon brise facilement son enveloppe nymphale, mais perce péniblement le cocon ; en réalité il en écarte les fils préalablement ramollis par une goutte de salive.

Après quelques heures, pendant lesquelles il s'est séché et a déployé ses ailes, le papillon est prêt à se reproduire. Ce sera la seule fonction importante de sa brève vie d'adulte. Son tube digestif atrophié lui interdit de s'alimenter ; et ses ailes trop réduites ne lui permettent plus de voler. La vie de ces papillons ne dure qu'une dizaine de jours, au cours desquels la femelle fécondée pond, immédiatement après l'accouplement, plusieurs centaines d'œufs.

Ainsi donc, si le cycle biologique du Ver à soie dure un an, la partie active de ce cycle ne dépasse pas 70 jours, dont 30 jours seulement pendant lesquels il y a nutrition, croissance et accumulation de réserves et 40 jours pendant lesquels il y a déjà consommation de ces réserves.

Cette histoire extraordinaire bien caractéristique des Insectes, mais présentant de nombreux traits accentués ou apportés par la domestication, pose d'innombrables problèmes que nous allons évoquer après un court rappel des notions essentielles de morphologie et d'anatomie.

Chapitre I

ÉLÉMENTS DE MORPHOLOGIE ET D'ANATOMIE

Dans cette première partie, nous nous proposons de rappeler les principales notions de morphologie et d'anatomie aux divers stades de développement du Ver à soie, en nous limitant strictement à ce qui est nécessaire à la compréhension des problèmes biologiques que nous désirons aborder.

I. — L'œuf

L'œuf embryonné, en cours de diapause, a une forme elliptique et un aspect biconcave en coupe. Il mesure en moyenne 1,4 mm de long, 1,2 mm de large et 0,6 mm d'épaisseur ; il pèse de 0,6 à 0,8 mg. Sa densité est légèrement supérieure à celle de l'eau : 1,07 environ. Si l'on trempe des œufs dans l'eau, ils tombent au fond du récipient, ceux qui flottent sont morts et peuvent être ainsi éliminés.

L'œuf est dur, car il est entouré d'une coque rigide ou *chorion* ; celui-ci dont l'épaisseur atteint de 4 à 6 millièmes de mm représente 10 à 15 p. 100 du poids total de l'œuf ; il est composé d'une scléroprotéine, la chorionine, qui contient du soufre. Cette coque est soluble dans les bases fortes, comme la potasse et se ramollit dans les hypochlorites alcalins, le brome...

A l'une des extrémités de l'œuf, on voit le *micropyle*, petit trou triangulaire prolongé de trois canalicules fins qui s'enfoncent obliquement dans le chorion jusqu'à l'intérieur de l'œuf. Autour du micropyle, on note plusieurs verticilles d'impressions irrégulières et sur toute la surface lenticulaire des pores infundibuliformes qui permettent l'aération. Malgré ce, la protection assurée par la coque est très efficace, puisque un trempage dans des solutions de sproduit divers (acides et bases fortes, permanganate, alcool, etc.) n'entraine la mort des œufs qu'au bout d'un temps assez long. Il est intéressant de signaler que la perméabilité de la coque de l'œuf à l'acide chlorhydrique varie grandement selon les races et selon les zones de l'œuf (19), probablement en relation avec une épaisseur inégale de la coque ainsi qu'avec la distribution et la taille des canaux respiratoires.

Sous la coque se trouve la *membrane séreuse*, formée de cellules polygonales, aplaties, bourrées de granulations de pigments dont la nature et la répartition sont variables (20).

Sous la séreuse se tient la masse des *cellules vitellines* dont le cytoplasme est chargé de réserves. Au milieu du vitellus on trouve une masse compacte de petites cellules présentant l'aspect d'une bandelette : c'est l'*embryon*. Il est disposé en arc de cercle et bordé sur son côté convexe par une cavité amniotique, elle-même limitée par une membrane, l'*amnios*.

Au moment où nous décrivons l'œuf, l'embryon est bloqué dans son développement ; on dit qu'il est en diapause.

II. — La chenille

La chenille comprend trois parties (cf. fig. 1) :

— *la tête* : capsule plus ou moins foncée, dure, et petite par rapport au reste du corps ;

— *le thorax* : assez gonflé, composé de trois segments portant chacun une paire de pattes écailleuses, qui sont les vraies pattes ;

— *l'abdomen* : cylindrique, comprenant neuf segments, dont cinq portent une paire de fausses pattes membraneuses.

De chaque côté du corps, il y a neuf paires de petites taches noires qui sont les *stigmates*, c'est-à-dire les ouvertures de l'appareil respiratoire.

A la naissance le petit Ver est hérissé de poils, sa tête est noire et le reste du corps brunâtre ; les poils dont la longueur dépasse le diamètre du corps sont portés par des tubercules, qui sont eux-mêmes disposés de façon régulière et précise à sa surface.

Plus âgée, la chenille apparaît glabre ; la couleur de sa peau s'éclaircit et devient généralement blanche. Cette transformation est parfois considérée comme un signe de domestication. Par contre, au fur et à mesure de la croissance, on voit se détacher deux paires de marques dorsales, les unes en forme de croissants ou lunules (2e segment abdominal), les autres plus arrondies (5e segment abdominal).

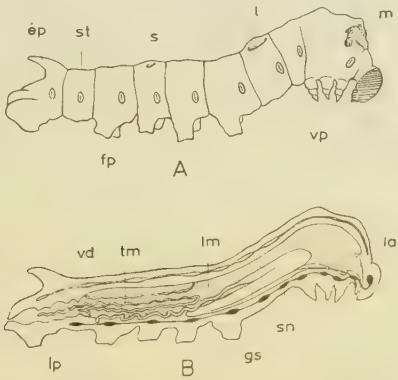
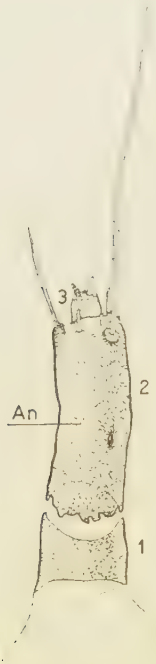
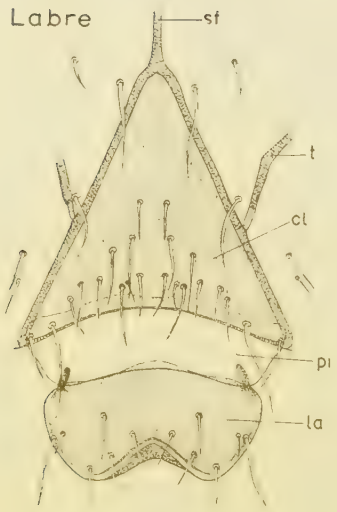


Fig. 1. — *Schéma général de la chenille.* — A. — Morphologie externe : *vp*, vraie patte ; *fp*, fausse patte ; *m*, masque ; *l*, lunule ; *s*, star ; *st*, stigmate ; *ép*, épiron. — B. — Organisation interne : *la*, intestin antérieur ; *lm*, intestin moyen ; *lp*, intestin postérieur ; *tm*, tube de Malpighi ; *vd*, vaisseau dorsal, *sn*, système nerveux, *gs*, glande séricigène.

Les appendices céphaliques (cf. fig. 2)

La tête dont le squelette externe est fait d'une série de pièces chitineuses porte deux antennes et deux groupes de six yeux ou stemmates : elle porte aussi l'ensemble des pièces buccales qui entourent la bouche et qui comprennent : en haut le labre, puis une paire de mandibules qui fonctionnent latéralement, une paire de machoires qui n'ont en fait aucun rôle masticateur, mais portent des organes sensoriels, enfin en bas le labium soudé à l'hypopharynx ; c'est au centre du labium qu'on trouve la filière, petit cône membraneux par l'extrémité duquel sort la soie (1).





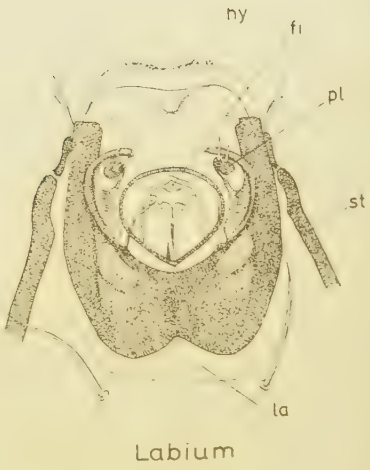


FIG. 2

Le tégument

Il comprend une assise de cellules hypodermiques, qui sécrétent vers l'extérieur une *cuticule* protectrice. Cette cuticule présente plusieurs couches successives :

une *épicuticule*, couche externe, très mince (moins de 1/20° de mm et moins de $^1/_2$ mg pour l'ensemble de la chenille), et pouvant présenter de petits spicules ou protubérances ; constituée d'une cire et d'une protéine, elle est particulièrement imperméable. La composition de la cire (19) a été étudiée

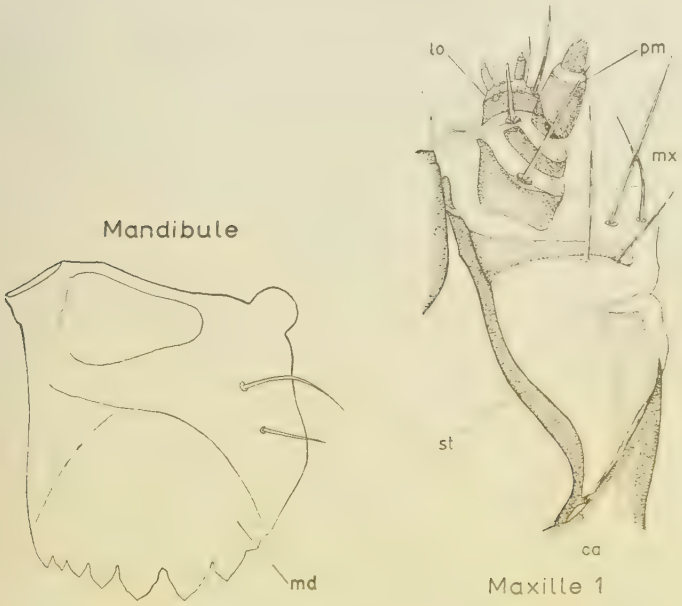


FIG. 2

FIG. 2. — *Les appendices céphaliques de la chenille.* — *An*, antenne ; *cl*, clypeus ; *sf*, suture frontale ; *t*, tentorium ; *pi*, pièce intermédiaire ; *la*, labre ; *md*, mandibule ; *mx*, mâchoire ; *lo*, lobarium ; *pm*, palpe maxillaire ; *st*, stipe ; *ca*, cardo ; *la* labium ; *hy*, hypopharynx ; *pl*, palpe labial ; *fi*, filière.

et on a remarqué d'autre part, que non seulement la cuticule s'épaississait au 5e âge et surtout pendant la période prépupale, mais aussi que la cire épicuticulaire augmentait et que son point de fusion s'élevait, sans doute, en relation avec la nymphose et la protection qu'elle nécessite contre la perte en eau (17, 18) ;

une *exocuticule*, intermédiaire, d'épaisseur variable ;

une *endocuticule*, interne, de structure lamellaire.

Endo-et exocuticules sont parcourues, perpendiculairement à la surface, de canalicules parallèles, extrêmement fins et de structure hélicoïdale.

Elles contiennent un polysaccharide, la *chitine*, dont la très grosse molécule ressemble à celle de la cellulose et une *protéine*, dont la composition diffère assez peu de la séricine de la soie et dont le degré de tannage déterminerait la dureté du tégument.

Des épaississements de la cuticule, ou *apodèmes*, permettent l'insertion des fibres musculaires.

Le tégument porte des *soies*, véritables petits organes sensoriels, ayant une sensibilité chimique ou tactile. Il comprend par ailleurs 15 paires de glandes, dites glandes de Verson, qui sont réparties sur l'ensemble du corps et dont la sécrétion se déverse au-dessous de la cuticule ; leur rôle sera étudié plus loin.

Le tube digestif (cf. fig. 3)

Il est constitué de trois parties d'origines embryologiques différentes :

— le *stomodeum*, invagination d'origine ectodermique, comprend la cavité buccale, le pharynx où s'insèrent les muscles, l'œsophage tube étroit

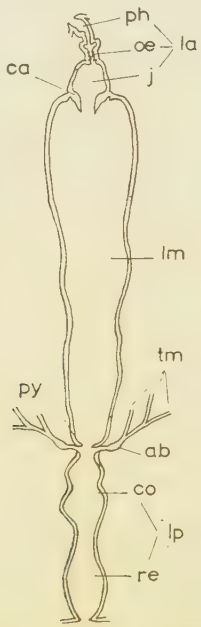


FIG. 3. — *Schéma du tube digestif de la chenille* (en coupe longitudinale). — *ph*, pharynx ; *œ*, œsophage ; *j*, jabot ; *ia*, intestin antérieur ; *ca*, cardia ; *im*, intestin moyen ; *py*, pylore ; *tm*, tube de Malpighi ; *ab*, ampoule basilaire ; *co*, cœcums ; *re*, rectum ; *ip*, intestin postérieur

et court, dont les cellules assez épaisses sont bordées d'une cuticule chitineuse munie d'épines dirigées vers l'arrière (pour empêcher la régurgitation des aliments) ; enfin le jabot, sorte d'entonnoir dont la paroi de cellules aplaties est recouverte d'une cuticule lisse et qui est lui-même enveloppé d'une tunique musculaire. Le jabot se termine par un repli, formant valvule, le cardia.

— le *mesenterum*, d'origine endodermique, est une grande poche de forme cylindrique légèrement aplatie. Sa paroi comprend, en allant de l'extérieur vers l'intérieur : une enveloppe musculaire à fibres longitudinales, obliques et circulaires, un épithélium présentant des cellules à plateau strié, des cellules de remplacement, enfin une membrane péritrophique sécrétée par les cellules intestinales, séparée de celles-ci et les protégeant ;

— le *proctodeum*, d'origine ectodermique, comprend le pylore dont la paroi entourée de muscles circulaires forme de nombreux sphincters, et au niveau duquel aboutissent les tubes de Malpighi ; le cæcum dont la paroi comprend un épithelium à cellules polygonales aplaties serré par des faisceaux musculaires et qui joue le rôle de filtre-presse où sont formées les crottes de la chenille ; enfin le rectum, grande poche à paroi de structure complexe, à l'intérieur de laquelle, entre deux membranes cellulaires, pénètrent les extrémités des tubes de Malpighi.

Les annexes du tube digestif

Une paire de glandes salivaires, dites *mandibulaires*, parce qu'elles viennent se jeter à la base des mandibules, dans la cavité buccale, sont du type en « doigt de gant » ; elles n'atteignent au maximum que 1 cm de long sur 0,2 mm d'épaisseur et sont donc réduites par rapport aux glandes labiales, qui ont pris une importance considérable sous forme de glandes *séricigènes* (voir le chapitre qui leur est consacré).

Les tubes de Malpighi au nombre de six, groupés par trois de chaque côté du corps, longent le tube digestif par une branche montante et une branche descendante, et se jettent dans celui-ci au début de l'intestin postérieur par l'intermédiaire d'une ampoule basilaire.

L'appareil circulatoire

Il est simple et comprend essentiellement un vaisseau médian dorsal, ouvert vers l'avant, dont les pulsations, assurées par une série de muscles aliformes déterminent la circulation de l'arrière vers l'avant. Le retour s'effectue par la cavité générale autour du tube digestif et de la chaine nerveuse ventrale.

Le sang présente deux constituants : un liquide, l'hémolymphe qui est le milieu intérieur de la chenille, et des éléments figurés, les globules sanguins ou hémocytes. Ces derniers sont de taille et de structure différentes et l'on peut en distinguer cinq types au moins ; de plus leur nombre varie selon les phases du développement, enfin une partie de ces éléments ne circule pas toujours avec le sang (15).

Les cellules péricardiales que nous pouvons citer ici en raison de leur proximité du vaisseau dorsal, sont groupées en travées plus ou moins longues, les cellules les plus petites étant aussi les plus éloignées du sinus cardiaque.

L'appareil respiratoire

L'appareil respiratoire s'ouvre à l'extérieur par 9 paires de stigmates ; ceux-ci présentent un filtre ou plaque criblée dont les mailles sont de l'ordre de 2 à 3 μ au 3^e âge et de 3 à 5 μ au 5^e âge. Il est très développé et constitué par un réseau complexe de *trachées*, sorte de tuyaux où circule l'air en nature ; ces tubes sont maintenus béants grâce à une armature chitineuse spiralée. La capacité de l'organe respiratoire est, chez la larve, plus forte dans la moitié postérieure du corps que dans la moitié antérieure.

On distingue deux troncs latéraux longitudinaux, qui relient les stigmates et d'où partent de nombreuses ramifications, en particulier au niveau de ces stigmates. Des commissures ventrales assurent la communication entre les deux troncs latéraux.

Les extrémités des trachées, ou trachéoles, pénètrent dans les tissus et y apportent l'air nécessaire aux cellules. Ces trachéoles sont fines (0,4 μ), mais assez longues (150 à 200 μ). Le nombre des terminaisons trachéolaires est au 5e âge de l'ordre de 707×10^3 (13).

Notons, en relation avec le réseau trachéen, la présence, au voisinage des stigmates, de petits groupes de grosses cellules appelées *oenocytes*.

Le système nerveux (cf. fig. 4)

Le système nerveux de la chenille est essentiellement ventral et comprend plusieurs parties.

— *le système nerveux central* se présente sous la forme d'une chaîne de ganglions dont 7 sont abdominaux, 3 thoraciques, un sous-œsophagien et deux cérébroïdes. Ces ganglions sont unis entre eux par un double filet nerveux ; entre le ganglion sous-œsophagien et les cérébroïdes les deux filets se séparent et forment un collier autour de l'œsophage. La chaîne ganglionnaire présente une pigmentation brunâtre, de nature mélanique (4).

— *le système sympathique* comprend le système stomatogastrique composé d'un petit ganglion frontal et d'un nerf récurrent qui court sur la face dorsale de l'intestin. Le système sympathique caudal forme une véritable queue de cheval partant des derniers ganglions abdominaux. Le système sympathique ventral est constitué des nerfs ventraux impairs issus chacun d'un des ganglions du système nerveux central et se subdivisant eux-mêmes en deux branches latérales innervant la région des stigmates.

Le système stomodéal proprement dit comprend chez le Ver à soie plusieurs nerfs :

— *les nerfs antérieurs* qui partent du ganglion frontal vers la surface dorsale de la cavité buccale et l'extrémité antérieure du pharynx ;

— *les nerfs récurrents* qui partent de la partie postérieure du ganglion frontal vers la partie dorsale du pharynx (en communiquant avec les ganglions occipitaux par de courtes branches) et vers l'arrière en donnant chemin faisant de nombreuses branches latérales vers les muscles du pharynx et de l'œsophage et enfin se subdivisent en deux grandes branches : l'une innervant le vaisseau dorsal, l'autre la région antérieure de l'intestin moyen.

La section des nerfs antérieurs et même des nerfs récurrents n'aboutit pas à des effets importants ni sur l'intestin, ni sur le vaisseau dorsal (6). On est pour le moment réduit à des hypothèses en ce qui concerne le déterminisme des mouvements de ces organes.

Les glandes à sécrétion interne

Elles peuvent se réduire à des cellules plus ou moins dispersées, comme c'est le cas pour les *cellules neuro-sécrétrices*.

Celles du cerveau sont de deux types : les cellules de type A, elliptiques, d'assez grande taille (40 à 70 μ), à noyau excentrique (10 à 15 μ) et présentant une vacuole en position apicale ; les cellules de type B, rondes, plus petites (18 à 25 μ), à noyau central (8 à 13 μ) et sans vacuole. Dans la partie centrale du cerveau, on trouve les deux types de cellules ; sur les côtés, seulement le

type B. D'autre part, le nombre de ces cellules est plus élevé chez la chrysalide et le papillon que chez la chenille.

On trouve également de grosses cellules neuro-sécrétrices dans le ganglion sous-œsophagien (en plus grand nombre chez les animaux qui pondront des œufs à diapause) ainsi que dans tous les autres ganglions de la chaîne nerveuse (10).

D'autres glandes à sécrétion interne sont des organes nettement individualisés, mais en relation étroite avec le système nerveux. C'est le cas des *corpora allata* et des *corpora cardiaca*, petites masses ovoïdes reliées au cerveau par des filaments nerveux (cf. fig. 4).

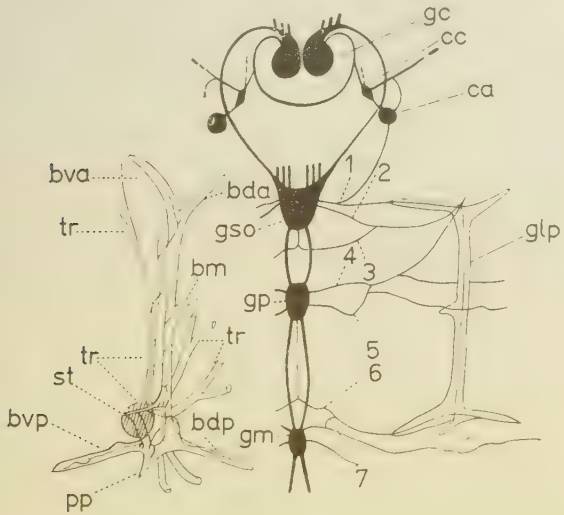


FIG. 4. — *Système nerveux et glandes à sécrétion interne* (schéma). — *gc*, ganglion cérébroïde ; *gso*, ganglion sous-œsophagien ; *gp*, ganglion prothoracique ; *gm*, ganglion mésothoracique ; *tr*, trachée ; *st*, spiracle trachéen ; *cc*, corpora cardiaca ; *ca*, corpora allata ; *glp*, glande prothoracique ; *bva*, bras ventral antérieur ; *bda*, bras dorsal antérieur ; *bm*, bras médian ; *bvp*, bras ventral postérieur ; *bdp*, bras dorsal postérieur ; *bp*, bras postérieur. — 1 à 7, n° des filets nerveux allant à la glande prothoracique.

Les *corpora allata* sont, chez *Bombyx mori*, du type latéralisé ; ils sont revêtus d'une capsule de petites cellules et contiennent un groupe de cellules plus grosses dont le nombre (une cinquantaine environ) semble constant au cours du développement larvaire. Leur croissance (6 à 7 fois la taille de naissance) est bien inférieure à celle de l'ensemble du corps de la chenille (2, 12).

Enfin les *glandes prothoraciques*, une de chaque côté, ne sont pas en relation directe avec le système nerveux. Elles seraient d'origine ectodermique et se formeraient par une invagination épithéliale du 2e segment maxillaire embryonnaire.

La glande prothoracique est tout entière contenue dans le premier segment du thorax (d'où son nom), dont elle a à peu près la longueur. Elle présente deux lobes vers l'avant, trois vers l'arrière et un dernier qui part au milieu du tronc longitudinal (voir fig. 4).

L'ensemble est innervé par sept nerfs provenant non seulement du gan-

glion prothoracique, mais aussi des ganglions sous-œsophagien et mésothoracique (3, 22).

Cette glande joue un rôle endocrine de première importance ; son activité sécrétoire a été étudiée au moment des mues et de la nymphose (7, 8) et des recherches histochimiques ont été commencées (6) ; il semble que la substance mucilagineuse sécrétée comprenne l'hormone, mais en même temps bien d'autres produits (glucolipides, glucoprotéines, phospholipides...).

Le corps adipeux

L'ensemble des cellules adipeuses ne constitue pas un organe à proprement parler ; elles sont groupées en bandelettes longitudinales et remplissent peu à peu la cavité générale, surtout chez les femelles.

A la fin de la vie larvaire, on distingue deux types de cellules adipeuses, les unes petites autour du tube digestif, les autres beaucoup plus grosses sous l'hypoderme.

Le corps adipeux doit son nom au fait que ses cellules enferment de nombreuses gouttelettes de graisse ; mais comme nous le verrons, son rôle dépasse de beaucoup celui d'un organe de réserves (14).

Il y a lieu de noter enfin que le corps adipeux et les trachées jouent, du point de vue mécanique, le rôle de tissus de remplissage et qu'en l'absence de tout squelette interne ces deux tissus contribuent de façon importante au maintien en place des divers autres organes.

Les muscles

Par contre les muscles ne prennent que peu de place à l'intérieur du corps. Cependant leur nombre est très élevé : plus de 4 000 muscles élémentaires (l'homme en contient 8 fois moins). Ce sont des faisceaux en forme de rubans, les uns très courts à l'intérieur d'un segment ou débordant sur un segment voisin, les autres un peu plus longs et obliques, permettant les mouvements de torsion, les autres enfin, plus profonds et se faisant suite sur toute la longueur du corps.

Chacun de ces rubans musculaires comprend plusieurs faisceaux de fibres striées. La striation est plus ou moins marquée. L'insertion de ces faisceaux au tégument chitineux se fait par l'intermédiaire de fibrilles spéciales jouant parfois le rôle de tendons.

Une grande partie de cette musculature, peu profonde assure la pression interne de la chenille. Si on endort celle-ci à l'éther ou au gaz carbonique, elle devient flasque et informe, en raison du relâchement général qui se produit.

La locomotion du Ver à soie qui se fait uniquement grâce aux fausses pattes membraneuses exige la coordination des muscles assurant la turgescence et de ceux permettant l'extension ou la rétraction des segments successifs et des fausses pattes.

Les ébauches génitales

Le stade chenille dans le développement du *Bombyx mori* n'est qu'une étape vers l'état adulte. Aussi existe-t-il dans la chenille les germes d'organes qui ne prendront leur plein développement que plus tard et qu'on appelle *disques imaginaux*.

Parmi ces ébauches, les plus importantes sont les ébauches génitales ; elles sont visibles dès la naissance du petit Ver, mais leur dissection ne permet

de distinguer les sexes que 2 à 3 jours plus tard. Ces ébauches se développent donc très précocement et atteignent un stade d'organisation avancée à la maturité de la chenille.

A ce moment, elles se présentent sous l'aspect de deux petits corps réniformes pour les mâles, pyriformes pour les femelles, situés dorsalement sous la peau du 5e segment abdominal, au niveau des « stars ». Elles sont entourées de tissus adipeux et oxygénées par les trachées de la 6e paire de stigmates.

De la face interne de ces ébauches partent deux filaments longs qui aboutissent au IIe segment et se réunissent sous le rectum au niveau de l'organe de Hérold. Ce dernier qui donnera naissance à une partie des organes génitaux des adultes a la particularité d'induire sur le tégument, à l'extérieur, des dessins très caractéristiques ou points d'Ishiwata. Ces points permettent au simple examen des chenilles, de pouvoir trier les mâles et les femelles. Le sexage est aisé dès la 4e mue (cf. fig. 5).

FIG. 5. — *Les points d'Ishiwata.* — Caractères sexuels secondaires permettant de séparer les chenilles femelles (A) des chenilles mâles.

III. — La chrysalide

Si on ouvre un cocon plusieurs jours après l'achèvement du cocon, on y trouve non plus la chenille, mais une chrysalide. Nous donnerons plus loin quelques détails sur cette transformation.

FIG. 6. — *Schéma général de la chrysalide.*
o, œil; *an*, antenne ; *p*, patte ; *pt*, ptérothèque ; *og*, orifice génital virtuel (♀) ; *a* ; anus *st*, stigmate.

La chrysalide du Ver à soie est une masse ovoïde, sans appendices saillants, incapable de se déplacer et de s'alimenter. Elle s'agite cependant par moments, d'un mouvement brusque de l'abdomen.

Elle est recouverte d'un tégument chitinisé et dur, de couleur brun clair. Sa division en tête, thorax et abdomen est bien visible (cf. fig. 6).

On reconnaît en effet, sur la tête deux yeux composés, grands, noirs et certainement non fonctionnels, deux antennes rabattues ventralement, entourant les pièces buccales et les pattes du thorax.

Ce dernier, lié rigidement à la tête, porte en effet ventralement, les trois paires de pattes normales et les deux paires d'ailes caractéristiques des Papillons.

Mais en fait, tous ces organes qu'on distingue très facilement morphologiquement ne sont pas fonctionnels ; leur position en témoigne. Ainsi les ailes, qui ne sont que les fourreaux des futures ailes (ou ptérothèques) sont comme les antennes rabattues sur la face ventrale où elles se rejoignent sur la ligne médiane.

L'abdomen comprend 10 segments dont les premiers sont en partie recouverts par les ailes et les derniers assez mal délimités, d'autant plus qu'ils sont parfois télescopés au cours de la mue nymphale. A l'extrémité postérieure et du côté ventral, les orifices génitaux virtuels forment un ensemble de marques très nettes qui permettent le sexage des chrysalides. D'ailleurs, le dimorphisme sexuel est, en général, très apparent, en particulier pour le poids, puisqu'une chrysalide femelle pèse environ 500 mg de plus qu'une chrysalide mâle.

L'ensemble du corps ne porte qu'un petit nombre de soies ; le thorax présente seulement une paire de stigmates vers l'avant ; l'abdomen 8 paires, dont les deux premières un peu cachées et la dernière non fonctionnelle.

Au point de vue interne, la chrysalide, comme nous le préciserons plus loin, n'a pas une organisation stable ; elle est au contraire en pleine transformation. On peut cependant décrire ici les éléments les plus constants.

Le vaisseau sanguin reste dorsal et le système nerveux ventral ; mais ce dernier se contracte et se concentre : dans le thorax, les deux ganglions postérieurs sont réunis ; dans l'abdomen, les ganglions des 1er, 4^{e} et 6^{e} segments se sont atrophiés ; les deux derniers sont fusionnés.

Le tube digestif est très différent de celui de la chenille. L'œsophage, tube mince et allongé, porte un jabot où s'accumule un liquide alcalin. L'estomac forme une petite poche, tandis que l'intestin s'allonge en un conduit grêle. Près de l'estomac, il reçoit les deux conduits où aboutissent les tubes de Malpighi. A l'extrémité postérieure, il forme une poche cœcale où s'accumulent les produits d'excrétion. Les tubes de Malpighi, qui sont restés au nombre de six, laissent leurs branches libres dans la cavité générale.

Les autres organes se modifient rapidement au cours du stade nymphal, en particulier les organes génitaux, dont l'évolution sera évoquée à propos de la métamorphose.

IV. — Le papillon

Le papillon du Ver à soie est généralement de teinte blanche, d'allure courte et robuste (cf. fig. 7). L'ensemble du corps est recouvert d'un épais feutrage de poils ou écailles qui lui donnent sa couleur et gênent l'observation morphologique. Il faut enlever patiemment ces écailles si l'on veut étudier les détails du squelette externe.

Ces écailles proviennent de cellules particulières qui subissent deux divisions successives orientées différemment, divisions qui se produisent trois jours après la nymphose ; l'une des cellules filles se transforme en écaille par croissance. La distribution de ces écailles à la surface du corps n'est pas quelconque ;

il n'y en a pas sur les membranes inter-segmentales, il y en a plus à l'avant qu'à l'arrière d'un segment, moins sur les côtés que sur le dos ; de plus la forme des écailles varie selon les parties du corps.

La cuticule adulte, qu'on découvre sous les écailles, commence à se former six jours après la nymphose, sa composition, son épaisseur, sa dureté varient également selon les parties du corps (5).

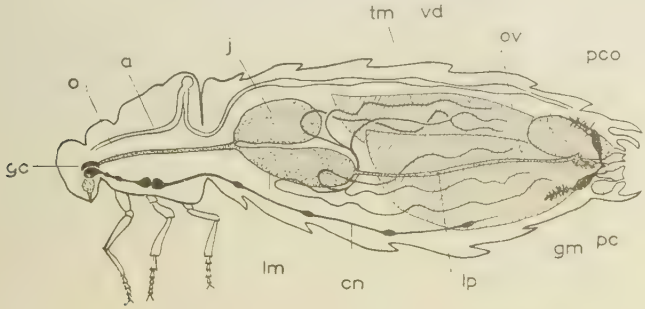


FIG. 7. — *Schéma général du papillon* (coupe longitudinale).
gc, ganglion cérébroïde ; *cn*, chaîne nerveuse ; *o*, œsophage ; *j*, jabot ; *Im*, intestin moyen ; *Ip*, intestin postérieur ; *pco*, poche cœcale ; *tm*, tube de Malpighi ; *a*, aorte ; *vd*, vaisseau dorsal ; *ov*, ovaire ; *gm*, glande muqueuse ; *pc*, poche copulatrice.

On découvre facilement la tête avec ses deux gros yeux noirs, composés de dix mille ommatidies ou yeux élémentaires très petits (1 35" de mm). La couche rétinienne originale s'est formée 10 heures avant la nymphose, si bien que la fonction des stemmates de la larve doit cesser avant la fin du filage (11). Les antennes, derrière les yeux, sont arquées et bipectinées, c'est-à-dire qu'elles portent une double rangée de ramifications. Elles sont formées de 30 à 40 articles, dont le scape à la base, puis le pédicelle, tous deux sans appendices ; on appelle flagelle l'ensemble des autres éléments.

Les pièces buccales sont atrophiées, comme chez d'autres papillons d'ailleurs (Psychides, Lymantrides, Bombycides) ; elles sont réduites à deux rudiments de mâchoires et à deux petits palpes labiaux ; la bouche pratiquement imperforée ne peut laisser passer aucune nourriture. Le papillon *Bombyx mori* vivra donc entièrement sur ses réserves.

Le thorax dont le 1er segment est peu développé, présente une ossature faite d'une série de pièces chitineuses très dures ; il porte deux paires de stigmates, trois paires de pattes et deux paires d'ailes. Les pattes sont articulées de façon typique en éléments successifs caractéristiques d'un Insecte : coxa, trochanter, fémur, tibia, tarses, griffes et pulvillus.

On trouve sur le 1er segment du thorax une paire de *patagia*, couverts d'écailles, qui ressemblent à de très petites ailes et forment collier derrière la tête.

Les ailes sont insérées sur les 2e et 3e segments du thorax (méso- et métathorax) ; en avant et à la base de l'insertion de la première paire d'ailes, on découvre deux pièces en lame courbe, ou *tegulae* (parfois confondues avec les patagia). Les ailes antérieures donnent une envergure faible (5 à 6 cm) ; elles sont falquées et recouvrent partiellement les ailes postérieures courtes et arrondies. Le dispositif de couplage est très simplifié ; le frein est réduit

chez le mâle à une sorte de crin aigu inséré à la base du bord antérieur de l'aile postérieure, chez la femelle à un moignon arrondi.

La nervation des ailes n'est pas la même pour l'aile antérieure et pour l'aile postérieure ; elle est de type hétéroneure (cf. fig. 8).

L'abdomen comprend théoriquement 10 segments (9 chez les femelles) ; mais les deux derniers ne se distinguent pas bien ; il porte 7 paires de stigmates ; il est mince chez le mâle, large et gonflé d'œufs chez la femelle. L'abdomen porte essentiellement à son extrémité postérieure, l'armure génitale, c'est-à-dire l'en-

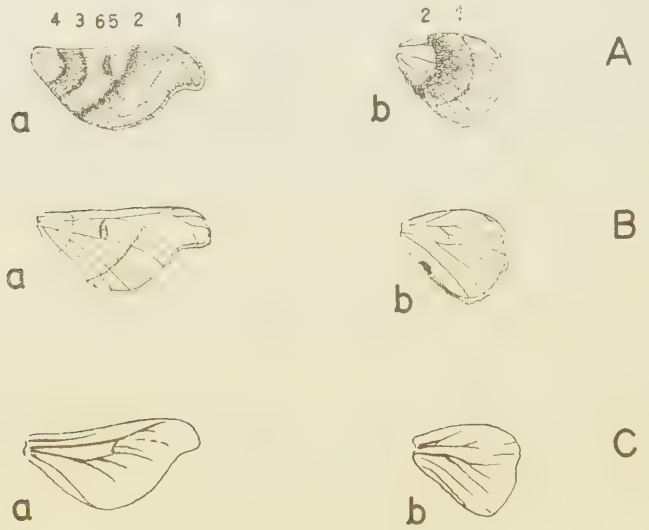


FIG. 8. — *Nervation et ornementation des ailes.*
a, aile antérieure ; *b*, aile postérieure. — A, papillon noir ; B, papillon blanc ; C, nervation rudimentaire.

semble des pièces permettant l'accouplement et la fécondation. La femelle est du type ditrysien, c'est-à-dire qu'en plus de l'anus elle porte deux orifices distincts, celui de l'accouplement et celui de la ponte. Chez la femelle on note en outre une paire de glandes exsertiles, odoriférantes, qui ont la propriété d'attirer les mâles et de déclencher leur comportement sexuel.

Au point de vue anatomie interne, on note que le thorax est presque entièrement rempli par les muscles moteurs des ailes et des pattes, alors que la cavité abdominale comprend surtout les organes génitaux et des masses de corps adipeux. Le reste occupe peu de place.

Le tube digestif est tel que nous l'avons décrit chez la chrysalide, la poche cœcale plus ou moins vidée, le sac à air plus ou moins gonflé.

Le système nerveux est de type condensé (2 ganglions thoraciques, 5 ganglions abdominaux) ; le cerveau a pris un certain développement avec les masses latérales des nerfs optiques, et les proéminences antérieures des nerfs antennaires.

Le vaisseau dorsal n'est vraiment dorsal que dans l'abdomen, où il court sous la peau, le long de la ligne médiane. Dans le thorax, l'aorte est assez profonde, et décrit brusquement une boucle dorsale au niveau du mésotho-

rax ; au sommet de cette boucle sous le tégument, le sang remplit une poche, à parois musculaires, qui bat comme un véritable cœur.

Le système trachéen est très développé, en particulier dans l'abdomen où il établit d'étroites relations avec les organes génitaux et le tissu adipeux ; du thorax il envoie des prolongements dans les ailes, le long des nervures ; enfin notons l'existence de plusieurs commissures reliant les troncs trachéens longitudinaux.

Les organes génitaux de la femelle (cf. fig. 9) comprennent deux ovaires. Les tubes ovariques qui les composent forment une masse pelotonnée de chaque côté de l'abdomen. Si on effectue la dissection et qu'on déroule avec précaution les ovarioles, on s'aperçoit qu'il y en a quatre par ovaire. Ces ova-

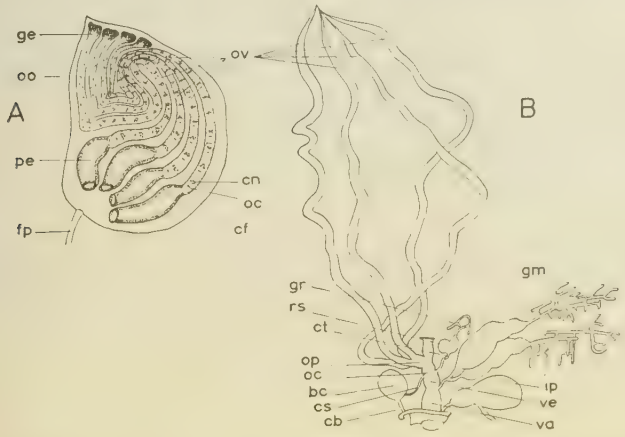


FIG. 9. — *Appareil génital femelle.* — A. — Ébauche génitale de la larve : *ge*, germarium ; *oo*, oogonies ; *ov*, ovarioles ; *cn*, cellules nourricières ; *oc*, ovocyte ; *cf*, cellules folliculaires ; *pe*, pedicelle ; *fp*, filament postérieur. — B. — Appareil génital de l'adulte (un seul ovaire représenté) : *va*, vagin ; *ve*, vestibule ; *ip*, intestin postérieur ; *cb*, conduit de la bourse copulatrice ; *bc*, bourse copulatrice ; *cs*, conduit séminal ; *ct*, conduit tortueux, *rs*, réceptacle séminal ; *gr*, glande du réceptacle ; *gm*, glande muqueuse ; *oc*, oviducte commun ; *op*, oviducte pair.

rioles sont réunis par leur extrémité apicale, le germarium : ils sont remplis d'œufs sur toute leur longueur (souvent plus de 80 par ovariole) ; ils se réunissent de chaque côté en un oviducte pair ; ces deux conduits se jettent dans un oviducte impair ; ce dernier reçoit le conduit séminal qui provient de la bourse copulatrice, le canal du réceptacle, qui comprend en fait deux conduits, enfin le canal excréteur des glandes accessoires, dites glandes du vernis, dont la sécrétion permettra aux œufs d'adhérer au support.

Ces glandes du vernis, ou glandes muqueuses, sont formées d'un réservoir à cellules fines et d'une partie sécrétrice présentant deux types de cellules. La sécrétion s'accumule normalement dans le réservoir au cours de la vie nymphale. Dans les races à œufs non adhérents, c'est la dégénérescence des cellules sécrétrices et non celle des glandes dans leur ensemble qui aboutit à l'absence de sécrétion (21).

Les organes génitaux du mâle (cf. fig. 10) présentent deux testicules séparés, formés de 4 follicules réunis dans la même enveloppe ; ils sont les

homologues des 4 ovarioles. Les canaux déférents se jettent dans le canal éjaculateur ; au point de jonction débouchent également les deux glandes annexes accolées sur la plus grande partie de leur longueur sauf à leur extrémité apicale où elles sont libres. Le canal éjaculateur se termine au pénis, après avoir traversé le bulbe éjaculateur.

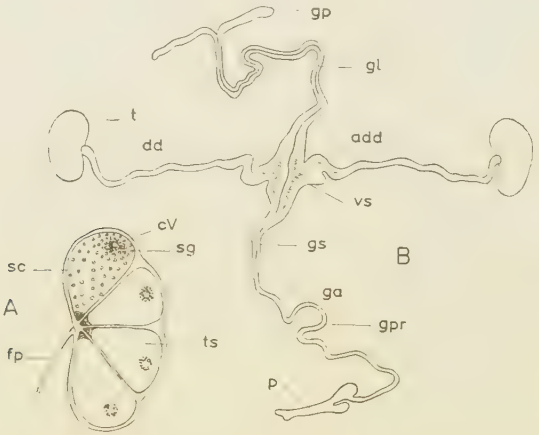


FIG. 10. — *Appareil génital mâle.* — A. — Ébauche génitale de la larve : *ts*, tube ou loge spermatique ; *fp*, filament postérieur ; *cv*, cellule de Verson ; *sg*, spermatogonie ; *sc*, spermatocyste. — B. — Appareil génital de l'adulte : *t*, testicule ; *dd*, conduit déférent ; *gp*, glande pellucide ; *gl*, glande laiteuse ; *add*, ampoule du conduit déférent ; *vs*, vésicule séminale ; *gs*, glande du spermatophore ; *ga*, glande blanche ; *gpr*, glande prostatique ; *p*, pénis.

RÉFÉRENCES DU CHAPITRE I

(1) BLANC (L.). — *Labor. d'Etudes de la Soie*, 163-340, 1889-90.
(2) BORGHESE (E.). — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, **21**, 273-6, 1946.
(3) BOUNHIOL (J. J.). — *Actes du 68e Congr. Ass. Fr. Avanc. Sci.* Clermont-Ferrand, 1949.
(4) BRANCHINI SCATIZZI (I.). — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, **21**, 244, 1946.
(5) ITO (T.). — *Bull. Seric. Exper. Stat.*, **14**, 5, 229-252, 1954.
(6) KAMIOKA (S.). — *J. S. S. J.*, **22**, 1, 1-10, 1953.
(7) KOBAYASHI (M.). — *J. S. S. J.*, **22**, 4, 155-162, 1953.
(8) KOBAYASHI (M.). — *J. S. S. J.*, **22**, 4, 163-170, 1953.
(9) KOBAYASHI (M.). — *Bull. Seric. Exper. Sta.*, **14**, 9, 451-69, 1956.
(10) KOBAYASHI (M.). — *Bull. Seric. Exper. Sta.*, **15**, 3, 181-273, 1957.
(11) KOYAMA (N.) et TANAKA (S.). — *Res. Rep. Fac. Text. Seric.*, SHINSHU Univ., **4**, 50-55, 1956.
(12) LEGAY (J. M.). — *C. R. Soc. Biol.*, **144**, 512-3, 1950.
(13) NUNOME (Z.). — *Bull. Seric. Exp. Sta.*, 12, 1, 41-90, 1944.
(14) PAILLOT (A.) et NOEL (R.). — *Bull. Hist. Appl.*, **5**, 1-20, 1928.
(15) PAILLOT (A.) et NOEL (R.). — *Bull. Hist. Appl.*, **5**, 105-128, 1928.
(16) SHIKATA (M.). — *J. S. S. J.*, **23**, 1, 35-43, 1954.
(17) SHIKATA (M.). — *J. S. S. J.*, **24**, 5-6, 325-332, 1955.
(18) SHIKATA (M.). — *J. S. S. J.*, **25**, 1, 29-35, 1956.
(19) TAKAMI (T.) et NOGUCHI (K.). — *J. S. S. J.*, **24**, 4, 253-258, 1955.
(20) TIRELLI (M.). — *Mem. Soc. Cub. Hist. Nat.*, **13**, 5, 177-187, 1939.
(21) TSUJITA (M.). — *Bull. Seric. Exp. Sta.*, **12**, 6, 633-648, 1948.
(22) YOKOYAMA (T.). — *J. S. S. J.*, **25**, 2, 87-94, 1956.

Chapitre II

LE CYCLE DE DÉVELOPPEMENT

Le cycle de développement du *Bombyx mori* comprend une suite de phénomènes complexes.

Après la fécondation, l'œuf est le siège d'une intense activité constructive, l'embryogénèse. Celle-ci ne se déroule pas de façon continue : elle est arrêtée, au moins dans ses apparences morphologiques, pendant une longue période, la diapause dont nous étudierons plus loin les principaux caractères.

Le stade larvaire, qui fait suite à l'éclosion, peut être qualifié de développement post-embryonnaire, puisque les caractères de l'adulte (le papillon) n'apparaissent pas encore. C'est une période de croissance proprement dite. Elle présente elle-même des crises passagères, appelées mues, pendant lesquelles la chenille change de peau et d'une façon générale de tout ce qui est chitineux. La fin de cette phase de grand accroissement pondéral est accompagnée non seulement du filage du cocon, mais aussi d'une mue particulière, qui conduit à une chrysalide.

Une nouvelle phase de morphogénèse active commence alors, d'où sortira le papillon. L'ensemble de ces profondes transformations constitue la métamorphose.

Ainsi la vie du Ver à soie, comme celle de tous les Insectes, est entrecoupée d'accidents notables, à l'occasion desquels l'animal est plus que jamais sensible aux facteurs du milieu extérieur. Nous étudierons d'abord les phénomènes généraux de la croissance, puis la mue, la métamorphose et la diapause.

I. — La naissance

La petite chenille prête à éclore ronge la coque de l'œuf et sort la tête la première. Exceptionnellement et avec difficulté elle quitte l'œuf à reculons. La façon dont le petit Ver perce la coque (111) et l'état du tube digestif à la naissance (112) ont suggéré quelques recherches.

L'heure de l'éclosion a attiré bien davantage l'attention : elle est déterminée par le photopériodisme (141). Normalement elle suit de près le lever du soleil. Expérimentalement, le traitement des œufs par une lumière ou une obscurité continues provoque une éclosion retardée et échelonnée. Une alternance d'obscurité et d'éclairement rend au contraire les individus prêts à éclore, très réceptifs. Des œufs gardés à l'obscurité en fin d'incubation, et éclairés brusquement le jour présumé de la naissance donnent une éclosion massive et groupée.

La sensibilité des œufs à la lumière se traduit par des modifications dans le comportement des chenilles à l'éclosion, mais aussi par celles de phénomènes plus importants, tels le voltinisme, comme nous le verrons plus loin.

Cette sensibilité dépasse la gamme des radiations visibles, puisque les rayons ultra-violets (95) agissent, selon l'époque à laquelle ils sont administrés, sur la durée de développement et le pourcentage d'éclosion.

II. — La croissance

L'étude de la croissance ne consiste pas seulement à examiner les variations pondérales : elle doit s'attacher à observer toutes les modifications morphologiques et physiologiques qui les accompagnent. Tels sont les aspects que nous allons aborder successivement.

1. — La croissance globale et la durée de développement

Le Ver à soie qui pèse 0,5 mg à la naissance atteint 4 g et plus à maturité, ce qui représente un accroissement de 8 à 10 000 fois. Ce phénomène remarquable qui domine la vie de la chenille diminue d'intensité du début à la fin du stade larvaire : son poids triple dans les premières 24 heures, il ne fait que quadrupler pendant la dernière semaine. D'autre part, à l'intérieur même d'un âge, c'est-à-dire entre deux mues, cette intensité varie de façon cyclique.

A partir de la 4e mue, le poids des mâles et des femelles se différencie nettement à l'avantage des secondes, l'écart pouvant dépasser 20 p. 100. Après la maturité de la chenille, le poids de l'animal commence à diminuer et continuera à décroître jusqu'à sa mort ; il diminue déjà avant filage, puis évidemment pendant le filage du cocon et ensuite moins rapidement pendant le stade nymphal ; il s'abaisse encore un peu à l'éclosion du papillon, puis au cours de la reproduction surtout pour la femelle, dont la ponte représente une part importante de son poids (près de la moitié !).

La chenille étant une larve à tégument mou, les modifications de dimensions au cours du cycle suivent d'assez près celles qui concernent le poids. La longueur totale du Ver est de 3 à 3,5 mm à l'éclosion ; elle atteint le maximum de 80 à 85 mm un peu avant le filage du cocon. La taille est alors 25 à 30 fois celle qu'elle était au départ. La loi de Dyar « la croissance linéaire suit une progression géométrique » s'applique bien au cas du Ver à soie, mais pas la loi de Przibram « les dimensions des stades successifs devraient être dans le rapport de 1,26 »).

En résumé on peut retenir les données numériques suivantes :

	Poids en mg.	Accroissement relatif	Durée de développement à 22°C.
Œuf	0,7		18 j. (+ diapause)
Chenille			
Éclosion	2,5		
1re mue	6	12	1er âge + 1re mue = 6 j.
2e mue	35	5,8	2e âge + 2e mue = 5 j.
3e mue	220	6,3	3e âge + 3e mue = 5 j. ½
4e mue	1 000	4,5	4e âge + 4e mue = 6 j. ½
Maturité	4 800	4,8	5e âge = 7 j.
Chrysalide			
Mâle	1 500		18 jours
Femelle	2 000		» »
Papillon			
Mâle éclosion	300 à 600		
mort	150 à 250		14 jours (5 à 20 j.)
Femelle éclosion	900 à 1100		
mort	150 à 300		

Il y a lieu de souligner que la capacité d'accroissement ou accroissement relatif diminue progressivement au cours du développement larvaire (61). La facilité avec laquelle on peut accumuler les données numériques sur la

croissance du Ver à soie a permis d'étudier l'allure générale des modifications en poids (3, 61, 84, 105), et en longueur (3, 10, 105).

La durée de développement à la température de 22°C comprend quatre semaines environ de vie larvaire, 15 à 18 jours de vie nymphale, 10 à 15 jours de vie imaginale ; les papillons mâles vivent un ou deux jours de plus que les femelles.

Toutes ces données relatives à la croissance et à la durée de développement sont évidemment fort variables, sous l'influence d'une série de facteurs externes et internes, dont nous n'évoquerons que quelques-uns d'entre eux. L'alimentation (11) étant donné son importance, méritera d'être étudiée à part. Quant à la température, il nous faut dès maintenant, souligner son influence fondamentale. Le Ver à soie, comme tous les Invertébrés, est un poïkilotherme, c'est-à-dire que n'étant pas capable d'assurer la régulation de sa température, cette dernière suit de près celle du milieu ambiant ; par suite l'activité des principaux organes dépend en fait de la température extérieure, à laquelle elle est liée par des relations qui sont d'ailleurs loin d'être simples. En conséquence, la croissance de la chenille et la durée de son développement, que l'on peut considérer comme des témoins globaux de l'activité générale de l'organisme, varient dans une large mesure selon la température :

Température	15°	22°	25°	45°
Durée de la vie larvaire	50 j.	30 j.	25 j.	14 j.

D'autres facteurs, comme le groupement (79), exercent une influence secondaire.

A la température optimum, il y a lieu de remarquer avec quelle rapidité et quelle intensité se déroule la phase d'assimilation, tout entière concentrée dans la vie larvaire. La sélection réalisée par l'homme, en augmentant le rendement de cette phase, a encore donné plus d'amplitude au phénomène.

2. — L'évolution morphologique

La tête, dont on sait qu'elle est formée de pièces chitineuses durcies donne de nombreux renseignements sur les modifications qui sont susceptibles, au cours de la croissance, d'atteindre la morphologie externe (45, 46).

Ainsi, la capsule céphalique croît de façon discontinue à l'occasion de chaque mue, de plus elle ne croît pas proportionnellement au reste du corps ; enfin un dimorphisme apparaît nettement à partir de la 4e mue entre mâles et femelles. Le tableau ci-dessous donne quelques indications à ce sujet :

Ages	1er	2e	3e	4e	5e	Maturité
Longueur du corps (en mm)	3	8	15	28	40	80
Largeur de la tête (")	0,55	1,13	1,82	2,69	3,84	3,84
Rapport à la longueur du corps	0,183	0,141	0,121	0,096	0,096	0,048

Le trou occipital, ouvert au premier âge, se ferme progressivement ; après la 4e mue, il est complètement obturé. L'épiderme présente au premier âge un certain nombre de macrochètes dentées (soies primaires), répartis de façon déterminée ; par la suite les macrochètes subsistent, bien que proportionnellement réduits en longueur, et il apparaît un revêtement de poils (soies subprimaires) qui croissent d'ailleurs relativement peu du 2e au 5e âge.

Les articles des antennes subissent au cours des âges successifs une croissance dysharmonique ; les yeux, si leur nombre reste évidemment le même, voient leur position relative sur la tête se déplacer vers l'avant. L'ensemble des

pièces buccales évolue également en forme, en proportions, ainsi que pour certains détails : par exemple, le nombre de dents des mandibules augmente du 1er au 4e âge.

En ce qui concerne le thorax, on note que le volume des 2e et 3e segments augmente plus que celui du 1er à partir du 2e âge.

Autre exemple, au 1er âge, les trois segments thoraciques sont pourvus d'un certain nombre de soies très longues — dentelées et insérées ou non sur des tubercules pilifères — et de quelques autres soies ventrales plus courtes. Au 2e âge, comme dans le cas de l'épicrâne, les macrochètes principaux subsistent, mais sont réduits en longueur et privés de denticulations. Il apparaît d'autre part, un revêtement de poils qui recouvrent plus ou moins bien les trois segments.

La chétotaxie des segments de l'abdomen varie de façon analogue à celle du thorax. Cependant il apparaît dans la région la plus ventrale des soies grêles et longues qui augmenteront de longueur au cours des âges.

Les fausses pattes de leur côté, croissent plus en largeur qu'en longueur et deviennent donc plus trapues. De plus, si elles ne portent au premier âge que quelques macrochètes, le nombre de soies se multiplie après la 1re mue ; après la 2e mue les soies deviennent plus longues, puis très longues et recourbées aux 4e et 5e âges. Enfin, la distribution et le nombre des crochets varient avec l'âge de façon suffisamment nette pour qu'on puisse établir, dans une race donnée, une clé de détermination de l'âge. Ce procédé est utilisé, au même titre que celui basé sur la largeur de la capsule céphalique, comme contrôle dans les études sur le nombre des mues.

3. — L'évolution organique et histologique

Certains organes ne sont pas suffisamment bien limités (corps adipeux, trachées...) pour donner lieu à des études biométriques simples ; mais tous ceux, glandes mandibulaires (76), corpora allata (75, 93), glandes séricigènes (77, 78), sur lesquels il est possible d'effectuer des mesures de dimensions et de volume montrent que leur évolution diffère sensiblement de l'un à l'autre. On dit que leur croissance est hétérogonique.

D'une part, les divers organes ne suivent pas le même rythme de croissance que l'ensemble du corps ; ils sont plus rapides ou moins rapides selon les cas ; le rapport de dimensions entre la maturité et la naissance donne un ordre de grandeur de ces dysharmonies.

Longueur en mm	Naissance	Maturité	Rapport
Longueur totale du Ver	3,5	80	23
Longueur totale de la glande séric.	3	260	86
Longueur totale de la glande mandib.	0,9	8,8	9,8
Diamètre des corps allates	0,02	0,14	7
Diamètre du ganglion du S.N	0,16	0,40	2,5
Longueur des ébauches génitales (mâles	0,1 à	2,5	25
génitales femelles	0,2	1,8	18

D'autre part, dans un même organe, la croissance peut fort bien être dysharmonique pour ses diverses parties. Ainsi pour les glandes séricigènes (77), la croissance en longueur et en épaisseur des trois parties (tube sécréteur, réservoir, canal excréteur) est isométrique jusqu'à la 3e mue. Au cours du 4e âge le tube sécréteur croît plus vite que les autres parties, et au dernier âge c'est

le réservoir dont le volume croit incomparablement plus vite que les autres parties. Ainsi la sécrétion de soie en quantité anormale, qui est précisément une des caractéristiques du Ver à soie ne devient vraiment telle qu'à partir de la 4e mue.

De plus, pour la plupart des organes (glandes mandibulaires, *corpora allata*, ganglions du système nerveux, ébauches génitales...), on observe non seulement une croissance cyclique à chaque mue, mais l'existence indiscutable de deux grandes phases à caractéristiques différentes : l'une comprenant les trois premiers âges, l'autre les deux derniers.

Enfin donc, l'ensemble de la croissance d'un organe quel qu'il soit, ne se déroule pas de façon régulière ; en termes biométriques, elle ne pourra être représentée par une droite unique (en coordonnées semi-logarithmiques) de l'éclosion de la larve à sa maturité.

Un autre aspect fort intéressant de l'évolution des organes concerne la structure même de leurs tissus et les caractéristiques de leurs cellules.

Il faut d'abord noter que cette croissance si extraordinaire de la chenille ne s'effectue pas, comme on pourrait le penser, par le moyen d'une multiplication active des cellules. En réalité, les divisions cellulaires sont rares dans la plupart des organes et groupées à des moments déterminés : par exemple, à la 2e et à la 3e mues pour les cellules hypodermiques.

Si bien que l'augmentation de taille du corps est souvent due à l'augmentation de taille des cellules elles-mêmes (114). Voici quelques données à ce sujet :

Variations de la taille des cellules selon les tissus au cours de la vie larvaire (en μ).

	Ages					
	Naissance 1	2	3	4	Maturité 5	Rapport 5/1
Cell. gl. sécrigène (partie moyenne du réservoir) d'après ONO (94).						
largeur	13	30	83	126	1417	109
longueur	104	199	429	721	4800	46
épaisseur	10	33	51	77	171	17
Cell. hypodermique : longueur	4,1	7,4	7	8,1	14,3	3,5
Cell. du tissu adipeux : longueur	10,8	19,0	23,5	27,2	32,6	3,0
Cell. ganglionnaire : longueur	5,1	5,8	6,2	6,2	6,0	1,1
Noyau de cell. musculaire : longueur d'après TRAGER (114).	4,9	9,8	16,0	33,1	36,4	7,4

Nous notons que tous les cas sont possibles depuis celui des cellules ganglionnaires dont la taille est constante jusqu'à celui des cellules des glandes sécrigènes dont la taille est multipliée par plus de 30 au cours de la vie larvaire. TRAGER a émis en 1935 l'hypothèse que ces divers types de croissance étaient en relation avec la destinée des tissus correspondants au cours de la métamorphose (c'est-à-dire maintien ou histolyse).

Autre problème important, la croissance de la taille cellulaire s'accompagne d'une évolution très particulière de la structure du noyau. Celui-ci croit aussi et perd sa forme globuleuse classique pour devenir lobé, puis ramifié au point de former un véritable réseau à travers le cytoplasme. Nous aurons

l'occasion de donner plus loin quelques précisions dans le cas des glandes séricigènes.

L'interprétation de ce phénomène reste difficile (endomitose?, polyploïdie?), d'autant plus que dans un même tissu on peut noter selon les cellules, des degrés divers de gigantisme et que d'autre part pour certains organes, ce gigantisme n'est que momentané et disparaîtra à la métamorphose.

Ainsi, toutes les données morphologiques, des plus globales (poids et taille) aux plus fines (cytologiques), témoignent d'une multitude de transformations qui reflètent l'intensité et la rapidité du déroulement des phénomènes pendant la phase larvaire du Ver à soie.

4. — L'évolution biochimique

Il n'y a pas lieu de s'étonner après les indications que nous venons de donner, si nous découvrons aussi dans le domaine des mesures biophysiques et biochimiques de grandes variations au cours de la vie larvaire.

Celles du milieu intérieur ont été étudiées de façon assez précise. Ainsi le pH du sang de la chenille s'abaisse de l'éclosion (7,1), à la 3e mue (6,7) pour rester stable ensuite (noter ici encore l'existence de deux grandes phases) ; de plus à chaque mue, y compris la mue nymphale, on note une chute momentanée de l'acidité ; enfin à la fin de la vie larvaire, le pH des femelles est plus élevé que celui des mâles (21). Le potentiel d'oxydo-réduction varie également dans une large mesure (99). Il en est de même de la viscosité (106).

La composition minérale de l'hémolymphe (7) est caractérisée par une diminution brutale du calcium (38 p. 100) et surtout du magnésium (60 p. 100) au moment du filage du cocon, puis par une augmentation relative du sodium aux dépens du calcium au cours de la vie nymphale. On observe des modifications aussi considérables dans la composition organique : la teneur en protéines du plasma sanguin (20) est cinq fois plus élevée au cours du filage que pendant le 3e âge larvaire.

Les recherches biochimiques analytiques sur le Ver à soie sont d'ailleurs innombrables depuis les plus anciennes (66, 85, 98) jusqu'aux plus récentes (6, 18, 35, 86). Nous retiendrons les données numériques simples suivantes :

Variations de la composition centésimale du Bombyx mori suivant l'âge, en p. 100 *de la matière sèche.*

	Œuf	Éclosion	1er âge	2e âge	3e âge	4e âge	5e âge	Chrys.
Protéines.....	74,3	80,8	56,7	66,2	75,9	72,7	71,8	73,4
Glucides.....	—	—	23,7	14,2	8,6	6,4	2,8	1,6
Lipides.....	22,1	10,9	12,3	10,0	5,1	5,9	15,2	19,7
Cendres.....	3,5	8,2	7,2	9,5	10,3	14,9	10,1	5,2

La teneur en eau est à peu près constante (82) pour ne varier légèrement qu'à la fin du dernier âge (31). Les cendres, par contre, présentent une évolution marquée par deux allométries différentes, avec une discontinuité à la 3e mue.

Les protéines, les lipides et les glucides voient tous leur évolution marquée par une discontinuité à ce même moment et suivent des lois d'allométrie diverses. Les protides n'augmentent pas de façon aussi disproportionnée qu'on pourrait le croire du fait de la sécrétion de la soie. Les glucides progressent peu, tandis que les lipides deviennent de plus en plus un constituant très important,

phénomène dont nous verrons plus loin la signification. L'évolution de la composition chimique du Ver à Soie est d'ailleurs inséparable de l'étude de son métabolisme.

III. — Les mues

Nous avons vu que la croissance de la chenille était interrompue par une série d'accidents appelés mues. Le langage populaire parle de « sommeils » ou de « maladies », insistant par ces termes sur certains aspects de la mue. En effet, à ce moment, le Ver est immobile, il ne mange pas, il a même vidé son tube digestif ; il s'est attaché au support par quelques fils de soie ; de plus, il est fragile, plus sensible au milieu extérieur. Que se passe-t-il?

En fait, la crise de la mue n'est que l'aboutissement morphologique d'une évolution physiologique qui commence au milieu de l'âge qui précède cette mue. Dès ce moment l'hypoderme s'y prépare et sécrète une nouvelle cuticule. Les glandes de Verson (117) augmentent de volume et sécrètent les enzymes nécessaires à la digestion de l'endocuticule ; la vieille cuticule se décolle. De ce fait, peu avant de tomber en mue, le Ver n'est plus capable de manger, ni de se mouvoir normalement ; il ne peut plus s'accrocher au support. Enfin, quand il est effectivement en mue, on voit apparaître derrière la tête un triangle sombre caractéristique.

A la fin de la mue, la vieille peau se fend, toujours au même endroit, derrière la capsule céphalique, au niveau du triangle ; et une chenille toute pâle, humide de sécrétions (67) sort de son ancienne enveloppe ou *exuvie*. Cette extraction est particulièrement spectaculaire pour toutes les parties dures de l'exosquelette, en particulier pour la capsule céphalique et les pièces buccales, ainsi que pour le système trachéen. Il est d'ailleurs probable que le décollement entre l'ancienne et la nouvelle cuticule se produit grâce à une contraction générale du volume de la chenille. Sitôt après la mue, la chenille se sèche, la pigmentation se rétablit, les pièces dures se reforment ; peu après, le Ver est capable de s'alimenter de nouveau ; le tégument se déplie, se distend et reprend alors sa tension normale.

La fréquence de sortie de mues des chenilles se représente graphiquement par une courbe bimodale (113) ; cette bimodalité n'est pas en relation avec le sexe, mais avec un rythme quotidien, et serait d'ailleurs indépendante des effets immédiats des facteurs externes.

Le liquide exuvial présente une grande activité enzymatique (48, 58, 59) ; on y trouve en effet une protéase, une invertase, une amylase et une chitinase. L'absence de tyrosinase ou de lipase qui sont par contre abondantes dans le sang ou le liquide digestif, prouve bien qu'il n'y a pas mélange de ces milieux avec le liquide exuvial. Celui-ci contient les produits de la digestion de la cuticule (acides aminés, glucosamine) qui s'effectue au niveau de la couche interne de la vieille cuticule. La résorption du liquide exuvial est réalisée par l'épiderme (60).

Avant et pendant la mue, les divers tissus sont le siège de modifications plus ou moins importantes, que PAILLOT (67) résume ainsi : « Les premières manifestations de la mue peuvent être observées au niveau des glandes exuviales ; elles se produisent deux jours environ avant le commencement de la mue proprement dite ; peu après, les cénocytes ou glandes hypostigmatiques passent de la phase de repos à la période d'activité fonctionnelle ; puis apparaissent, dans les cellules péricardiales d'abord, les micronucléocytes ensuite, les

enclaves fuchsinophiles. Lorsque le ver cesse de manger, l'épiderme se vacuolise et les enclaves fuchsinophiles apparaissent dans le tissus adipeux ; la vieille cuticule se décolle ensuite de l'épiderme et du tissu ectodermique (trachées, épithélium des intestins postérieur et antérieur) pendant que de nouvelles inclusions albuminoïdes apparaissent dans le cytoplasme des cellules adipeuses. Ce n'est qu'au moment où la nouvelle cuticule est reconstituée que les modifications cellulaires et tissulaires prennent toute leur importance et leur signification au niveau du tube intestinal moyen : l'épuration cytoplasmique et nucléaire devient très apparente pendant que la membrane péritrophique est progressivement expulsée vers la partie postérieure du tube. La reconstitution de la nouvelle membrane, précédée d'une modification générale du chondriome dans la région apicale aboutissant à la formation de véritables plastes, commence après que le ver s'est débarrassé de la vieille cuticule épidermique. Pendant ce temps, les inclusions fuchsinophiles des cellules adipeuses, sanguines et péricardiales disparaissent petit à petit en même temps que les glandes exuviales et les œnocytes diminuent de grosseur et entrent à l'état quiescent. Le noyau de la plupart des cellules de l'organisme est le siège d'une active reconstitution des nucléoles aux dépens de la chromatine. »

Ces transformations cytologiques et histologiques s'accompagnent de variations dans l'activité des diastases (54, 55) sur lesquelles nous sommes beaucoup moins bien renseignés ; mais nous en trouvons la preuve dans l'étude de certaines substances comme c'est le cas du glycogène (96), dont le cycle à l'intérieur des cellules est en relation avec le déroulement de la mue. On sait aussi que la teneur du cytoplasme en ARN augmente pendant la mue dans les cellules du tégument et que noyau et cytoplasme font preuve d'une grande activité.

Le Ver à soie subit en général 4 mues larvaires, qui déterminent donc depuis l'éclosion 5 périodes appelées âges. Comme les âges eux-mêmes, les mues durent plus ou moins longtemps. La plus longue, la dernière, ne dure guère moins de deux jours à 20° C.

Le mécanisme de la mue est sous contrôle hormonal. En réalité les phénomènes ne sont pas simples et plusieurs hormones sont en jeu. D'une part les cellules *neurosecrétrices* de la *pars intercerebralis* des ganglions cérébroïdes émettent une substance activatrice qui agit sur les *corpora allata*. Ceux-ci dont l'action est antagoniste de celle du ganglion sous-œsophagien émettent une hormone dite juvénile parce qu'elle favorise, entre autres, la croissance larvaire. Les *corpora allata* ne croissent pas comme l'ensemble du corps de la chenille. Leur volume relatif, comme leur activité, diminue progressivement au cours de la vie larvaire. Ce sont en fait les hormones de la glande prothoracique (α et β ecdysones) qui contrôlent directement les phénomènes de la mue ; mais c'est de l'équilibre hormonal *corpora allata* — ganglion sous-œsophagien que dépend le type de mue qui se produit, c'est à dire mue larvaire ou mue nymphale. Tant que les *corpora allata* ont une activité suffisante, les mues sont des mues larvaires. Les hormones de la glande prothoracique ont été isolées sous forme cristallisée (15) et leur concentration dans l'animal estimée (de l'ordre du γ par chenille).

Le nombre de mues varie comme nous le verrons selon la structure génétique : il y a des races à 3 mues et même à 2 mues (95). Il est intéressant de remarquer pour l'interprétation du phénomène de la mue, même si l'on ne souscrit pas à la théorie de JUCCI (61), que la croissance des Vers d'une race à 3 mues est plus limitée que celle des Vers d'une race à 4 mues ; à maturité

les chenilles pèsent 4 800 mg dans le 2e cas et seulement 3 000 mg dans le 1er cas.

Le nombre de mues varie aussi selon l'alimentation. Une sous-alimentation systématique qualitative, par exemple avec des feuilles de Mûrier d'automne (9, 30), ou quantitative (80, 81) conduit à l'apparition de mues supplémentaires. Par ailleurs, un choc de température répété (un séjour de 12 à 48 h. à 34° C., 12 à 24 h. après le premier repas de chaque âge) aboutit à l'apparition d'un grand nombre de quinquemuants (64).

D'autre part, mue et sexe ne sont pas indépendants ; on en connait plusieurs preuves : la fréquence plus élevée des femelles dans les quinquemuants (89) et certaines différences dans le déterminisme général de la mue (88). Ces faits montrent bien que les hormones n'expliquent pas à elles seules l'ensemble des phénomènes de la mue.

Les mues larvaires ne conduisent pas à des transformations morphologiques externes très importantes ; le Ver à soie reste une larve, jusqu'au stade nymphal où apparaitront pour la première fois des caractères d'adultes.

IV. — La métamorphose

1. — Les phénomènes apparents.

Avant de filer son cocon, le Ver avait vidé son tube digestif ; au cours du filage, il a émis un poids de soie important ; aussi le Ver qu'on découvre à l'intérieur du cocon qui vient d'être terminé est-il le tiers d'un Ver mûr. Sa peau est plissée, flasque, d'un blanc laiteux ; la cuticule nymphale commence à se former 2 à 3 h. après la fin du filage (53) ; les fausses pattes et l'éperon sont flétris. Par contre, les 2e et 3e anneaux du thorax sont marqués de renflements latéraux, qui annoncent les ailes.

Au bout de trois jours, une mue se produit. Le dépouillement est assez différent de celui que nous connaissions pour les mues larvaires. C'est par une série de gonflements et de rétractions que l'animal arrive d'abord à se dégager de la peau abdominale, puis à faire éclater son enveloppe sur la ligne dorsale et à sortir en repoussant peu à peu l'exuvie qui se tasse vers l'arrière.

L'animal qui vient d'éclore ne ressemble plus du tout à la chenille. C'est une chrysalide. Elle se présente morphologiquement telle que nous l'avons brièvement décrite dans un chapitre précédent. Mais elle est d'abord molle, très fragile, et blanc jaunâtre. La peau est transparente et laisse parfaitement voir le vaisseau dorsal et les amas de tissus adipeux sous-jacents. C'est progressivement que le tégument durcit et se pigmente.

Le *brunissement* du tégument à la sortie de la mue nymphale est une des caractéristiques qui différencie cette dernière des mues larvaires. Il suppose une modification dans les conditions d'activité de la phénol-oxydase (55), peut-être en relation avec un changement de composition chimique du tégument lui-même.

L'aspect extérieur ne se modifiera plus sensiblement pendant deux semaines ; puis le tégument brunit encore, et se détache visiblement de l'hypoderme, en particulier aux joints des anneaux de l'abdomen. Une nouvelle mue se prépare.

Un matin, parfois de très bonne heure dans certaines races, la partie abdominale s'isole complètement de la peau nymphale, qui se fend bientôt suivant la ligne dorsale et sur les côtés. L'animal qui sort est un papillon. Il

émet alors par la bouche quelques gouttes de liquide alcalin provenant du jabot. Ce liquide, qui contient une séricinase (24), mouille une extrémité du cocon, ramollit et décolle les fils soyeux. Avec l'aide de ses pattes, le papillon écarte les fils sans les couper, passe la tête, puis le thorax et sort enfin tout entier.

Cette dernière mue est appelée mue imaginale parce qu'elle donne naissance à la forme adulte qui est pour le Ver à soie un papillon.

A sa sortie, le papillon est humide et mou ; ses ailes sont pliées et pendent de chaque côté du corps. Il cherche un plan vertical et peu à peu, comme après la mue nymphale, l'insecte se sèche et le tégument durcit. Puis les ailes se déplient, s'amincissent et deviennent rigides ; les premiers battements deviennent possibles. Le réseau trachéen s'est rempli d'air ; le jabot vidé de son contenu liquide s'est également rempli d'air. Très souvent, c'est à l'éclosion que le papillon excrète quelques gouttes d'un liquide rougeâtre qui était accumulé jusque là dans la poche cœcale. L'émission de ce liquide ou *méconium* est déclenchée probablement par la pression subie par l'abdomen au moment de son extraction du cocon.

L'ensemble de ces transformations très apparentes qui conduit le même animal de sa forme chenille à sa forme papillon est appelé *métamorphose*.

2. — Le contrôle hormonal.

Le déroulement de la métamorphose dans ses manifestations morphologiques s'effectue sous contrôle hormonal (8, 32, 33). Les mêmes hormones que pour la mue sont en jeu (62, 63). Mais la situation n'est plus la même. Tandis que les *corpora allata* voyaient leur influence s'amenuiser, la glande prothoracique, dont l'activité est aussi sous la dépendance des substances émises par le cerveau, gardait toute son importance. C'est seulement parce que l'équilibre *corpora allata* — ganglion sous-œsophagien est rompu aux dépens des premiers que les hormones de la glande prothoracique déclenchent une mue qui n'a plus cette fois les caractères larvaires, une mue nymphale ; et enfin une mue imaginale. La concentration des ecdysones baisse de façon considérable dans la nymphe (4, 12). La question des relations entre les diverses glandes endocrines pose encore de nombreux problèmes (13).

Il y a lieu cependant de donner dès à présent quelques indications. D'abord celles d'une expérience très intéressante (90) : la nymphose se produit dans la plupart des larves, si l'on pratique l'ablation complète *d'une* des glandes prothoraciques ; elle ne se manifeste que rarement si l'on enlève une partie des deux glandes ; il apparaît également des formes intermédiaires, pour lesquelles la nymphose n'atteint qu'une partie de l'animal, par exemple le tégument autour des stigmates ou dans la partie dorsale de chaque segment.

Il est d'autre part certain que la différenciation imaginale est contrôlée par la glande prothoracique qui dépend elle-même du cerveau. La période de sensibilité est très précoce (3 heures après la nymphose, parfois même dans certaines races dès le 5^{e} âge larvaire) ; des nymphes privées de cerveau sont des nymphes éternelles (« Dauer-pupae ») (68, 69, 71).

Le mécanisme des transformations internes qui se réalisent dans les conditions normales et dont nous allons parler, bien que sensible à l'action des facteurs externes (70, 120) est réglé lui aussi par des hormones : on note par exemple que l'hormone de différenciation imaginale ne peut être secrétée par la glande prothoracique que si la larve respire un air contenant plus de 5 p. 100 d'oxygène. Mais il est beaucoup plus difficile d'élucider cet aspect que celui des

transformations externes. Selon les cas, d'autre part, le mode d'action diffère : les hormones interviennent soit par voie humorale (on a noté au cours de la métamorphose deux poussées d'activité des cellules neurosecrétrices du cerveau) soit par l'intermédiaire des ganglions du système nerveux (c'est sans doute le cas du dernier ganglion abdominal pour l'ovulation et des ganglions responsables de l'étalement des ailes (92).

Mais les phénomènes ne sont pas encore bien connus et certains faits ne laissent pas d'être surprenants. Ainsi la castration, même précoce, c'est-à-dire pratiquée chez la chenille, n'empêche nullement le développement des caractères sexuels secondaires. L'ablation des *corpora allata* reste sans effet chez *Bombyx mori* alors que chez d'autres Insectes elle bloque l'ovogénèse.

3. — Les transformations profondes.

En profondeur, les changements ont été au moins aussi considérables qu'en surface. De la brève description que nous avons faite de la structure interne de la chenille, de la chrysalide et du papillon, on peut retenir les très grandes différences qui existent entre ces divers stades. Certains organes importants ont pratiquement disparu, d'autres qui étaient à peine visibles ont pris la première place, d'autres enfin qui se sont maintenus ont changé complètement d'aspect. Ces transformations mettent en jeu plusieurs mécanismes.

Pour certains tissus ou organes, il y a une véritable refonte, comprenant deux aspects, l'un d'histolyse, l'autre d'histogénèse (tégument, muscles, trachées, ...). Pour certains organes (glandes séricigènes), l'histolyse n'est pas suivie d'histogénèse et leur disparition est quasi totale (1). L'histolyse, véritable destruction des tissus, à laquelle participent activement des phagocytes, conduit à une bouillie nutritive comparable au vitellus de l'œuf. Aux dépens de celle-ci de nouveaux organes se forment et en particulier ceux de la reproduction. Pendant la phase d'histolyse, on observe une diminution de la teneur en glycogène (80 p. 100), en relation avec la présence d'une série d'enzymes glycolytiques activés par l'hormone de la glande prothoracique (57). Nous voyons là un des premiers exemples connus du rôle des hormones dans les transformations internes subies par la nymphe. Souvent on connaît la variation de l'activité enzymatique comme c'est le cas pour la succinoxydase (56) ou la cytochrome-oxydase (115), sans connaître encore le déterminisme de ces variations. La plupart du temps nous ne possédons encore que des renseignements globaux concernant soit la transformation et la migration des substances minérales (43), soit celles des hydrates de carbone et des graisses (6, 19, 44, 47, 91, 116). La richesse des chrysalides en protides (60 p. 100 du poids sec) a également attiré l'attention (86). Parmi les nombreux acides aminés présents sous forme non protéique, on note l'importance de l'acide glutamique, de l'arginine, de la tyrosine (74, 86) et, par rapport aux chenilles, de la méthionine (2).

Mais c'est pendant la phase d'histogénèse que le métabolisme azoté paraît le plus remarquable : il est caractérisé par une synthèse protéique intense, qu'on peut encore activer par addition de certains acides aminés (101, 103). Le rôle des acides nucléiques est alors prépondérant (102) et l'on note la synthèse d'ADN. en même temps qu'une diminution d'ARN.

Pour d'autres tissus dont les éléments sont plus stables, il intervient des remaniements histologiques, qui peuvent être importants, mais qui permettent toujours une certaine continuité entre les divers états : c'est le cas du système nerveux, des glandes salivaires (51), des tubes de Malpighi et même du tube

digestif (52). Il se produit alors des phénomènes particuliers tels que les divisions multipolaires qui font passer d'une grosse cellule inactive à plusieurs petites cellules rajeunies, des migrations cellulaires, des multiplications ou développements de cellules jusque là au repos.

Pour d'autres organes enfin, il y a développement pur et simple, à partir de petits amas cellulaires, appelés *disques imaginaux*, qui étaient restés plus ou moins en sommeil pendant la phase larvaire (pattes, ailes, tractus génital). La position dans la larve de ces disques imaginaux est assez bien connue : elle est proche dans chaque segment des organes auxquels ils donneront naissance (110). Des précisions récentes portent sur les annexes de l'appareil génital femelle (108, 109), et les genitalia du mâle (110).

C'est aussi le cas des gonades, bien qu'on ne puisse assimiler leurs ébauches larvaires à des disques imaginaux. Les gonades présentent en effet chez le Ver à soie un développement important dès le stade larvaire et relativement indépendant de la métamorphose.

Dans le cas du mâle, les testicules sont parfaitement formés dans la chenille mûre et nous verrons plus loin que la gamétogénèse y est déjà bien avancée. Pendant la nymphose, les ligaments postérieurs se transforment en conduits déférents ; ceux-ci se réunissent et à leur point de jonction se renflent en vésicules séminales ; vers l'avant ils émettent deux cœcums qui donneront les glandes accessoires ; vers l'arrière, ils se dirigent, juxtaposés, vers l'organe de Herold qu'ils rejoignent après s'être fondus en un conduit unique, le canal éjaculateur.

Dans le cas de la femelle, les ovaires ont une structure typique au moment de la maturité de la chenille, mais ne représentent en volume que des ébauches. Dès la nymphose, les capsules crèvent et les tubes ovariques descendent dans l'abdomen en suivant les ligaments postérieurs qui se racourcissent progressivement. L'oviducte produit par l'organe de Herold vient à leur rencontre et la soudure se réalise. Les tubes ovariques d'abord rectilignes forment rapidement de nombreux replis au fur et à mesure que les œufs grossissent, pour donner finalement deux masses pelotonnées qui remplissent complètement et distendent la cavité abdominale.

D'autre part, les ovules qui s'étaient développés dans la partie haute des tubes ovariques, retenus par un bouchon qu'on a improprement appelé corps jaune, descendent simultanément dans les huit tubes à la fin de la phase nymphale, deux jours avant l'éclosion du papillon : c'est l'ovulation (83). Les ovules vont jusqu'à l'oviducte impair et par conséquent quand le papillon éclot, il est absolument prêt à pondre, sans aucun délai.

Ainsi le phénomène fondamental de la métamorphose est de mettre l'animal en état de se reproduire, mais il y a lieu d'insister sur l'état très avancé du développement des gonades à la fin de la vie larvaire ; à considérer le déroulement de la métamorphose chez le Ver à soie, on comprend mieux comment, chez certains Insectes, la reproduction peut se réaliser au stade larvaire (pédogénèse).

V. — La diapause

1. — Description du phénomène

L'œuf normalement fécondé, pondu par le papillon commence immédiatement son développement. Extérieurement cette activation se trahit par une modification de couleur. D'un jaune plus ou moins clair selon les races, l'œuf

passe rapidement à l'orangé, au rouge vineux, puis au gris lilas qui est sa teinte définitive. A l'intérieur de l'œuf un embryon est formé et atteint le stade de la bandelette germinative. A ce moment *le développement s'arrête*. Pourtant à cette époque de l'année (juin, juillet), les conditions du milieu sont celles qui paraissent convenir à la vie de l'insecte et à un métabolisme normal. On peut donc dire qu'il s'agit d'une *diapause vraie*.

D'innombrables expériences ont eu pour but de rompre cette diapause, en faisant agir sur l'œuf tous les facteurs physiques et chimiques habituellement utilisés au laboratoire. Les agents mécaniques (23, 118), le froid intense, une température élevée (60°C) (5, 25), la pression atmosphérique, l'électricité, l'oxygène (26, 104), l'eau oxygénée (16), les acides forts (27), ou une combinaison de plusieurs de ces facteurs (28) n'aboutissent pas à des résultats satisfaisants.

En définitive, aucun agent ne s'est avéré capable de rompre rapidement la diapause, *une fois celle-ci installée*. Si la température de 20°C est maintenue à partir de la ponte, la diapause disparaît après un très long délai, mais dans de mauvaises conditions, puisque le pourcentage d'éclosion ultérieur est faible (20).

Un seul facteur, le froid (+ 5 à + 15°C), mais à condition d'être appliqué suffisamment longtemps (deux mois), finit par « éliminer » cette diapause (22). Les œufs remis à une température ordinaire (20°C) poursuivent alors leur développement et donnent naissance aux jeunes Vers avec des pourcentages d'éclosion élevés.

On peut interpréter de façon simple ce résultat en disant que les processus physico-chimiques, pour lesquels la température optimum est généralement élevée (supérieure à 20°C) admettent pendant la diapause un optimum très différent, aux environs de + 7°C. C'est à cette température que la diapause se termine le plus rapidement.

Dans les conditions naturelles (tout au moins dans les régions méditerranéennes), la succession des saisons et des températures qui y correspondent fait que les œufs éclosent au printemps de l'année qui suit celle où ils ont été pondus. Il y a ainsi une génération par an.

Mais toutes les races de Vers à soie ne sont pas monovoltines. Certaines sont bivoltines, c'est-à-dire présentent deux générations par an, la première qui pond des œufs sans diapause, la seconde qui pond des œufs à diapause. D'autres races sont polyvoltines, c'est-à dire que les générations se succèdent sans interruption.

Dans le cas d'œufs sans diapause, la couleur gris lilas foncé n'est jamais atteinte (34) ; les œufs restent clairs. On a montré que la coloration du chorion était due à l'activité des cellules folliculaires et qu'elle était accélérée par l'hormone voltinisante secrétée par le ganglion sous-œsophagien (121, 124), dont nous parlerons un peu plus loin. Cette perméabilité différentielle des cellules folliculaires à la cynurénine s'étend à certains colorants expérimentaux, mais pas à des substances telles que la riboflavine ou l'acide urique qui se trouvent dans le sang de la chrysalide. La période de sensibilité du phénomène à la température se situe à la fin du premier tiers de la vie nymphale : à ce moment la perméabilité est plus forte à 15 20° qu'à 30°C (122). La position de cette période est probablement à mettre en relation avec l'activité hormonale et le taux de croissance des ovaires.

Enfin, si l'on n'a pas trouvé le moyen de rompre la diapause, on a mis au point un traitement qui permet de l'éviter. Si on fait subir aux œufs en cours de virage, c'est-à-dire avant que la diapause soit commencée, un bain dans une

solution d'acide chlorhydrique, le développement ne s'arrête pas et l'éclosion survient quinze jours plus tard (107).

2. — Détermination de la diapause

Des observations précédentes et en particulier de l'existence de races à voltinismes différents, on pouvait déduire que le déterminisme de la diapause était inscrit bien avant le moment de son apparition, ce qui explique pourquoi les facteurs du milieu sont sans effet lorsque le phénomène devient apparent.

Cette façon de voir était confirmée par des résultats anciens et d'ailleurs surprenants : la température d'incubation des œufs détermine la présence ou l'absence de diapause dans les œufs de la génération suivante. Les femelles de race bivoltine pondent des œufs à diapause si les œufs dont elles sont issues ont été incubés à haute température (25°C), des œufs sans diapause si leur vie embryonnaire s'est déroulée à basse température (15°C). A des températures intermédiaires (18-20°C), la durée de l'éclairement pendant la vie embryonnaire et les premiers stades larvaires prend une grande importance : si cette durée est de 16 h la plupart des papillons pondront des œufs à diapause, si elle est de 12 h, ils pondront des œufs sans diapause (73, 88).

Les importantes recherches de FUKUDA (36, 37, 38, 39, 40, 41) et celles plus récentes d'autres chercheurs japonais (49, 72) ont clairement montré que le cerveau joue encore une fois le rôle principal ; il contrôle dans la chrysalide l'activité du ganglion sous-œsophagien, qui émet le facteur de diapause ; ce ganglion était déjà connu comme émettant dans la larve un facteur inhibiteur de la croissance, antagoniste de l'hormone des *corpora allata*. Dans la mesure même de cet antagonisme, les *corpora allata* ne sont certainement pas étrangers au déterminisme de la diapause.

Les relations entre cerveau et ganglion sous-œsophagien se font essentiellement par la voie des connectifs. En effet, la section d'un connectif diminue la régulation, mais la section des deux connectifs ne bloque pas complètement cette régulation. Donc l'action exercée par le cerveau sur le ganglion sous-œsophagien doit pouvoir se transmettre par plusieurs voies (42).

Des expériences récentes (72) semblent montrer que les neurosecrétions du cerveau se transmettraient différemment selon leur origine ; celles provenant des cellules de type A suivraient les axones, celles de type B emprunteraient la voie sanguine.

Connaissant maintenant le rôle primordial joué par le cerveau dans ce déterminisme, il devient dès lors probable que les facteurs externes (lumière, température) qui agissent au cours de l'incubation des œufs agissent sur le cerveau embryonnaire et induisent dès ce moment son aptitude à stimuler ou à bloquer ultérieurement l'activité du ganglion sous-œsophagien. En réalité, on pense maintenant qu'ils induisent une plus ou moins grande quantité de neurosecrétions en relation avec un nombre de cellules neurosecrétrices, lui-même plus ou moins grand (deux fois plus de cellules de type A dans le cas des animaux pondant des œufs à diapause). Et ce serait ce nombre de cellules qui, en définitive, subirait l'influence des facteurs externes.

On comprend beaucoup moins bien l'action tardive au stade nymphal de certains sels. Un changement de voltinisme est obtenu par injection dans la chrysalide d'une solution de ClNa ou de ClK (123). Il est probable que de telles substances n'agissent pas sur le mécanisme hormonal lui-même, mais directement sur les ovocytes en cours de croissance et en particulier sur leurs enzymes. L'injection d'une solution de nitrate d'uranium à de jeunes chrysalides

femelles conduit les papillons qui en sont issus à pondre des œufs sans diapause (50) ; ce phénomène reste complètement inexpliqué.

3. La physiologie de l'embryon pendant la diapause

Ce domaine n'est malheureusement pas encore exploré suffisamment chez le Ver à soie. Si l'œuf en diapause est le siège de réactions lentes, à caractéristiques particulières (vitesse optimum à + 7°C), il vit et il se transforme.

Parmi les phénomènes globaux les plus simples, nous noterons que l'œuf en diapause perd du poids (4 à 5 p. 100 environ) qu'il respire (25 fois moins que le lendemain de la ponte, 50 fois moins que la veille de l'éclosion). Le système cytochrome est pratiquement absent et il ne redeviendra effectif qu'avec la fin de la diapause (cf. le développement embryonnaire, chap. V).

VI. — La mort

Les papillons meurent, on le sait, au bout d'un petit nombre de jours. On note un affaiblissement progressif qui entraîne une diminution de l'activité musculaire et dans une moindre mesure des réactions sexuelles.

La durée de la vie d'adulte varie selon les individus, selon le sexe, selon les races. La température joue un grand rôle : à 5°C les mâles peuvent vivre plus de deux mois et les femelles un mois, à 35° ils ne résistent que 5 à 6 jours (17, 87).

Mais le déterminisme de la mort des papillons du *Bombyx mori* reste fort mal connu. Leurs réserves ne paraissent pas épuisées. Peut-être ne sont elles plus sous une forme utilisable ? On a envisagé aussi l'intervention possible d'une intoxication (87) et le rôle du système nerveux (100) : un abdomen de mâle isolé après ligature peut vivre 35 jours à 20°C.

En résumé, et pris dans son ensemble, ce cycle de développement complexe présente des phases à caractéristiques très différentes : de l'œuf à la maturité de la chenille, l'animal est en période de nutrition active et de croissance, qui n'exclut pas les crises ; du filage du cocon à la mort du papillon, il est en période de décroissance, qui n'exclut d'ailleurs pas une phase d'organogénèse.

RÉFÉRENCES DU CHAPITRE II

(1) Akao (A.). — *Bull, Seric. Experim. Sta.*, **12**, 1, 1-17, 1944.
(2) Amanieu (M.), Duchateau (G.), Florkin (M.) et Jeuniaux (C.). — *Arch. Internat. Physiol.*, **64**, 3, 518-519, 1956.
(3) Anoutchina (T. M.). — *Inst. Transcaucasien Rech. sc. Seric.*, Tiflis, **2**, 30-49, 1931.
(4) Arvy (L.), Bounhiol (J. J.) et Gabe (M.). — *C. R. Acad. Sc. Fr.*, **236**, 6, 627-9, 1953.
(5) Bellati et Quajat (E.). — Venise, 1892 (cité par Maillot et Lambert).
(6) Bergmann (W.). — *J. Biol. Chem.*, **114**, 27, 1936.
(7) Bialaszewicz (K.) et Landau (Ch.). — *Acta Biol. Exper.*, Varsovie, **12**, 42, 307-320, 1938.
(8) Bounhiol (J. J.). — *Bull. Biol. Fr. et Belg.*, (thèse), suppl. 24, Paris, 1938.
(9) Bounhiol (J. J.). — *C. R. Soc. Biol.*, **124**, 1223-26, 1937.
(10) Bounhiol (J. J.). — *Actes VII^e Congr. Seric. Intern.*, Alès, 1948.
(11) Bounhiol (J. J.). — *Rev. du Ver à soie*, **2**, 1, 17-20, 1951.

(12) Bounhiol (J. J.), Gabe (M.) et Arvy (L.). — *Bull. Biol. Fr. et Belg.*, **87**, 323-333, 1953.
(13) Bounhiol (J. J.). — *C. R. Acad. Sc. Fr.*, **245**, 13, 1087-89, 1957.
(14) Buonocore (C.). — *Ann. Speriment. Agr.*, Ital., **7**, **5**, 1509-29, 1953.
(15) Butenandt (A.) et Karlson (P.). — *Z. Nat. Forsch.*, B., Dtsch., **9**, 6, 389-391, 1954.
(16) Cadariu (M.). — *Stud. Cerc. Biol. Chy.*, **7**, 1-4, 163-71, 1956.
(17) Chiossi (E.). — *La Seta*, **43**, 25, 6-8, 1937.
(18) Comenge (M.) et Ojeda (K.). — *Rev. esp. Fisiol.*, **3**, 2, 145-164, 1947.
(19) Courtois (A.). — *C. R. Acad. Sc. Fr.*, **188**, 9, 666-68, 1929.
(20) Cubells (A.). — *Rev. Ver à soie*, **7**, 5-6, 169-237, 1955.
(21) Demjanowski (S.), Galzowa (R.) et Roshdestwenska (W.). — *Bioch. Zbl.*, **257**, 386-405, 1932.
(22) Duclaux (E.). — *C. R. Acad. Sci. Fr.*, **69**, 1021-22, 1869.
(23) Duclaux (E.). — *Act. et Mém. Congr. Intern.*, Montpellier, 1875.
(24) Duspiva (F.). — *Z. Nat. Forsch.*, B. Dtsch., **5**, 5, 273-81, 1950.
(25) Emme (A. M.). — *Dokl. Akad. Nauk*, S. S. S. R., 52, **7**, 645-48, 1946.
(26) Emme (A. M.). — *Dokl. Akad. Nauk*, S. S. S. R., **80**, 1, 141-4, 1951.
(27) Emme (A. M.). — *Dokl. Akad. Nauk*, S. S. S. R., **88**, 2, 381-4, 1953.
(28) Emme (A. M.) et Lobzhanidze (V. I.). — *Dokl. Akad. Nauk.* S. S. S. R., **103**, 4, 735-36, 1955.
(29) Florkin (M.). — *C. R. Soc. Biol.*, **123**, 1024-26, 1936.
(30) Fraisse (R.). — *Rev. du Ver à soie*, **2**, 3-4, 99-121, 1952.
(31) Fraisse (R.). — *Rev. Zool. Agric. et Appl.*, 4-6, 66-70, 1954.
(32) Fukuda (S.). — *Proc. Imp. Acad.* Tokyo, **16**, 417-420, 1940.
(33) Fukuda (S.). — *Proc. Imp. Acad.*, Tokyo, **16**, 414-416, 1940.
(34) Fukuda (S.). — *Dozatsu*, 52, 415-429, 1941.
(35) Fukuda (S.). — *Bull. Sericult. Exp. Sta.*, **13**, 9, 481-503, 1951.
(36) Fukuda (S.). — *Zool. Mag.*, **60**, 119-121, 1951.
(37) Fukuda (S.). — *Proc. Japan Acad.*, **27**, 9, 582-586, 1951.
(38) Fukuda (S.). — *Proc. Japan Acad.*, **27**, 10, 672-677, 1951.
(39) Fukuda (S.). — *Annat. Zool. Jap.*, **26**, 1-2, 149-155, 1952.
(40) Fukuda (S.). — *Proc. Jap. Acad.*, **29**, 7, 381-384, 1953.
(41) Fukuda (S.). — *Proc. Jap. Acad.*, **29**, 7, 385-388, 1953.
(42) Fukuda (S.). — *Proc. Jap. Acad.*, **29**, 7, 389-391, 1953.
(43) Fukuda (T.). — *Bull. Sericult. Exp. Sta.*, **13**, 10, 557-63, 1951.
(44) Fukuda (T.). — *Bull. Sericult. Exp. Sta.*, **13**, 10, 535-56, 1951.
(45) Grandi (G.). — *Bull. Lab. Zool. Gen. et Agr.*, **15**, 137-203, 1921.
(46) Grandi (G.). *Ibid.*, **17**, 3-40, 1923.
(47) Hagmann (M.). — *Mitt. Schweiz. Entomol. Gesellsch.*, **27**, 4, 441-2, 1954.
(48) Hamamura (Y.), Iida (S.), Otuka (M.), Kanahera (Y.) et Iti (S.). — *Bull. Fac. of Text. Fib.*, Kyoto Univ., **1**, 1, 127-130, 1954.
(49) Hasegawa (K.). — *Nature*, **179**, 4573, 1300-01, 1957.
(50) Hasegawa (K.). — *Bull. Sericult. Exp. Sta.*, **12**, 5, 513-530, 1947.
(51) Ito (H.). — *Bull. of the Imp. Tokyo Ser. Coll.*, **1**, 3, 1916.
(52) Ito (T.). — *Bull. of the Imp. Tokyo Ser. Coll.*, **2**, 1, 40 pp. 1920.
(53) Ito (T.). — *Bull. Sericult. Exp. Sta.*, **13**, 10, 585-611, 1951.
(54) Ito (T.). — *Bull. of the Sericult. Exp. Sta.*, **13**, 6, 305-328, 1951.
(55) Ito (T.). — *Bull. of the Sericult. Exp. Sta.*, **14**, 3, 115-40, 1953.
(56) Ito (T.). — *Annot. Zool. Jap.*, **28**, 1-7, 1955.
(57) Ito (T.) et Horie (Y.). — *Nature*, **179**, 4570, 1136-37, 1957.
(58) Jeuniaux (Ch.) et Amanieu (M.). — *Arch. Int. Physio-Bioch.*, **63**, 1, 94, 1955.
(59) Jeuniaux (C.). — *Actes Soc. Lin.* Bordeaux, **97**, 8 p. 1957.
(60) Jeuniaux (C.). — *Arch. Intern. Physiol.*, **66**, 1, 121-22, 1958.
(61) Jucci (C.). — *Arch. Zool. Ital.*, **11**, 179-197, 1926.

(62) KARLSON (P.) et STAMM MENENDEZ (H. D.). — *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem., Dtsch.*, **306**, 2-3, 109-111, 1956.
(63) KARLSON (P.) et STAMM MENENDEZ (H. D.). — *Soc. Espan. de Fis. Quim. An. Ser. B., Quim.*, **53**, 3, 243-248, 1957.
(64) KAWAI (T.). — *J. S. S. J.*, **24**, 2, 103-106, 1955.
(65) KAWAI (T.) et EBANA (T.). — *J. An. Trans. Tottori Soc. Agri. Sci.*, **10**, 3, 95-98, 1954.
(66) KELLNER (O.). — *Landwirt. Versuchest.* **30**, 59, 1884.
(67) KOBAYASHI (M.). — *J. S. S. J.*, **24**, 5-6, 383-88, 1955.
(68) KOBAYASHI (M.). — *J. S. S. J.*, **24**, 5-6, 389-92, 1955.
(69) KOBAYASHI (M.). — *Nature*, **182**, 4628, 110-111, 1958.
(70) KOBAYASHI (M.) et YAMASHITA (M.). — *J. S. S. J.*, **21**, 4, 274-278, 1957.
(71) KOBAYASHI (M.). — *Bull. Sericult. Exp. Sta.*, **15**, 3, 181-273, 1957.
(72) KOBAYASHI (M.) et KIRIMURA (J.). — *Nature*, **181**, 4617, 1217, 1958.
(73) KOGURE (M.). — *J. Dept. Agric. Kyushu Imp. Univ.*, **4**, 1-63, 1933.
(74) KOYANAGI (T.) et MATSUOKA (M.). — *Bull. Sericult. Exp. Sta.*, **14**, 253-262, 1954.
(75) LEGAY (J. M.). — *C. R. Soc. Biol.*, **144**, 512-513, 1950.
(76) LEGAY (J. M.). — *Rev. du Ver à soie Fr*, **3**, 2, 21-24, 1950.
(77) LEGAY (J. M.). — *Rev. du Ver à soie Fr.*, **1**, 1, 59-64, 1949.
(78) LEGAY (J. M.). — *Rev. du Ver à soie Fr.*, **1**, 2, 27-32, 1949.
(79) LEGAY (J. M.) et PASCAL (M.). — *C. R. Acad. Sc. Fr.*, **233**, 5, 445-447, 1951.
(80) LEGAY (J. M.). — *Ann. Epiph.*, **3**, 309-313, 1952.
(81) LEGAY (J. M.). — *Ann. Epiph.*, hors série, thèse, Paris, 1955.
(82) LEGAY (J. M.). — *Rev. du Ver à soie*, **3**, 1, 47-50, 1951.
(83) LEGAY (J. M.). — *Ann. Epiph.*, **1**, 5-10, 1958.
(84) LUCIANI (L.) et LOMONACO (D.). — *Arch. Ital. Biol.*, **22**, 340-349, 1897.
(85) LUCIANI (L.) et LOMONACO (D.). — *Atti. R. Acad. Lincei*, **294**, 6, 155-162, 1897.
(86) MAYMONE (B.) et TIBERIO (M.). — *Ann. Sperim. Agr.*, **203**, 203-228, 1954.
(87) METCHNIKOFF (E.). — *Ann. Inst. Pasteur*, **29**, 477, 1915.
(88) MOROHOSHI (S.). — Physiological Genetics, pp. 418-450, in « Silkworm genetics » by TANAKA and others, Tokyo, 1952.
(89) NAGAMORI ( ). — *Proc. Imp. Acad.* Tokyo, **3**, 299-303, 1927.
(90) NAGATA (T.). — *Bull. Fac. Text. Fib.* Kyoto Univ., **1**, 1, 11-14, 1954.
(91) NIEMIERKO (W.). — *Acta Biol. Exper.*, Pologne, **14**, 151-5, 1947.
(92) NISHIMURA (K.). — *J. S. S. J.*, **26**, 5, 329-334, 1957.
(93) NOVAK (V. J. A.). — *Vèst., Cs. Zool. Spol.*, **18**, 2, 98-133, 1954.
(94) ONO (M.). — *Bull. Ser. Exp. Sta.*, **13**, 6, 247-303, 1951.
(95) OOTA (S.), WATANABE (A.) et TOKUNAGA (H.). — *J. S. S. J.*, **26**, 1, 77-81, 1957.
(96) PAILLOT (A.). — *C. R. Soc. Biol.*, **127**, 1502-04, 1938.
(97) PAILLOT (A.). — *Ann. Epiph.*, **5**, 3, 339-386, 1939.
(98) PELIGOT (E.). — Mémoire Imp. Mme Vve BOUCHARD-HUZARD, Paris, 1853.
(99) REISS (P.) et ACHARD (G.). — *C. R. Soc. Phys. Biol. Fr.*, **16**, 115-6, 1942.
(100) ROSTAND (J.). — *Bull. Soc. Ent. Fr.*, **47**, 10, 166-168, 1942.
(101) SISAKIAN (N. M.) et KUVAEVA (E. B.). — *Biokhimija*, **18**, 3, 354-62, 1953.
(102) SISAKIAN (N. M.) et GUMILEVSKAIA (N. A.). — *Biokhimija*, **21**, 6, 810-15, 1956.
(103) SISAKIAN (N. M.) et KUVAEVA (E. B.). — *Biokhimija*, **22**, 4, 680-94, 1957.
(104) SKRIABINE (K. I.). — *Dokl. Akad. Nauk.*, **80**, 1, 1951.

(105) Tchikviladze (P. Z.) et Tkechelachvili (J. C.). — *Inst. Transcaucasien Rech. sc. seric*, **2**, 3-29, 1931.
(106) Taguchi (R.). — *Bull of ser. and silk Ind.*, **4**, 1, 1-2, 1931.
(107) Takano (T.). — Nagoya, 1924.
(108) Takeda (H.) et Tanaka (K.). — *Res. Rep. Fac. Text. Sericult.* Shinshu Univ., **4**, 39-40, 1954.
(109) Takeda (H.). — *Res. Rep. Fac. Text. Sericult.* Shinshu Univ., **5**, 45-46, 1955.
(110) Takeda (H.) et Tanaka (K.). — *Res. Rep. Fac. Text. Seric.*, Shinshu Univ., **6**, 42-44, 1956.
(111) Takeuchi (K.). — *J. S. S. J.*, **24**, 1, 49-56, 1955.
(112) Takeuchi (K.). — *J. S. S. J.*, **24**, 4, 259-63, 1955.
(113) Tanaka (F.). — *J. S. S. J.*, **25**, 1, 41-46, 1956.
(114) Trager (W.). — *J. of Exp. Zool.*, **71**, 3, 489-508, 1935.
(115) Ueda (K.). — *J. S. S. J.*, **25**, 6, 445-449, 1956.
(116) Vaney (C.) et Maignon (F.). — *C. R. Acad. Sc. Fr.*, **140**, 1192-1195, 1905.
(117) Verson (E.). — *Zeitschr. Wiss. Zool.*, **97**, 457-477, 1911.
(118) Verson (E.) et Quajat (E.). — *Ann. R. Staz. Bac. Padova*, 1874.
(119) Verson (E.). — *Il filugello*, 452 p., Milano, 1917.
(120) Williams (C. M.). — *Biol. Bull.*, **82**, 3, 347-55, 1942.
(121) Yoshitake (N.). — *J. S. S. J.*, **23**, 2, 67-75, 1954.
(122) Yoshitake (N.). — *J. S. S. J.*, **23**, 6, 343-348, 1954.
(123) Yoshitake (N.). — *J. S. S. J.*, **23**, 6, 349-356, 1954.
(124) Yoshitake (N.). — *J. S. S. J.*, **24**, 2, 108-113, 1955.

TABLE DES MATIÈRES DE L'ANNÉE 1959

I. — MÉMOIRES ORIGINAUX

BONNEMAISON (L.). — Le puceron cendré du Pommier (*Dysaphis plantaginea Pass.*). Morphologie et biologie. Méthode de lutte 257
COUTIN (R.). — Étude expérimentale sur les captures d'imagos de *Laspeyresia pomonella L.* par des pots-pièges, appâts 351
COUTIN (R.). — Quelques particularités du cycle évolutif des cécidomyies. La diapause prolongée des larves et l'apparition différée des imagos 401
DEVERGNE (J. C.). — Identification à partir de *Trifolium repens* L. d'un virus proche du virus de la mosaïque jaune du haricot *Phaseolus virus* 2 SMITH 475
GALZY (Mme R.). — Observations sur un champignon maculicole des feuilles de vigne 423
GUENNELON (G.). — Le problème des cétoines grises dans la basse vallée du Rhône 309
JOLLY (M. S.). — Un cas d'enchaînement : blessure avec infection cryptogamique à *Trichothecium roseum* LINK chez le lépidoptère *Bombyx mori* L. 37
LE BERRE (J. R.). — Caractères biologiques des *Locusta* de la faune de France et étude d'un exemple de diapause embryonnaire 101
LEGAY (J. M.), PASCAL (M.) et BAUD (L.). — Contributions à l'étude de l'alimentation chez le ver à soie (*Bombyx mori* L.) 321
LEGAY (J. M.). — Effets d'un traitement temporaire des chrysalides à basse température sur les phénomènes ultérieurs de la reproduction chez *Bombyx mori* L. 409
LEGAY (J. M.). — Physiologie du ver à soie 501
MESSIAEN (C. M.), LAFON (R.) et MOLOT (P.). — Nécroses de racine, pourritures de tiges et verse parasitaire du maïs 441
MISSONNIER (J.). — Essais de lutte contre la mouche de la betterave (*Pegomyia betae* CURTIS) 37
PONCHET (J.). — La maladie du piéton-verse des céréales : *Cercosporella herpotrichoides* FRON. Importance agronomique, biologie, épiphytologie 45
VAGO (C.) et CROISSANT (O.). — Recherches sur la pathogénèse des viroses d'insectes. La libération des virus dans le tube digestif de l'insecte à partir des corps d'inclusion ingérés 5

CHRONIQUE DES LIVRES

BODENHEIMER (F. S.). — L'écologie animale aujourd'hui 99
HORTON (J. E.). — Molluscs 100
X. — Diseases and pests on horticultural planting material. A guide to their recognition 99

Le Gérant : B. LACLAVIÈRE

Imprimerie Bussière à Saint-Amand (Cher), France. — 4-3-1960.

Dépôt légal: 1er trimestre 1960 *N° d'impression: 781*

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Bâtiment provisoire du Palais de Chaillot, PARIS-XVIe. Tél. : CARnot 08.00.
Directeur : H. FERRU

Conseil Supérieur de la Recherche Agronomique

Président..... M. le Ministre de l'Agriculture.
Vice-Président..... M. le Professeur LEMOIGNE, membre de l'Institut.

Comité Permanent de la Recherche Agronomique

Président..... M. le Professeur LEMOIGNE.
Membres..... MM. les Professeurs BRESSOU, TERROINE, LHÉRITIER.
Le Directeur de l'Institut National de la Recherche Agronomique,
L'Inspecteur général de la Recherche Agronomique,
Les Directeurs centraux de Recherches.

Rédaction des Annales

Pour l'ensemble des Séries : M. BUSTARRET, Inspecteur général de la Recherche Agronomique.

Série A. — *Agronomie :* M. BOISCHOT, Directeur de la Station centrale d'Agronomie.

Série A *bis*. — *Physiologie végétale :* M. COÏC, Directeur de la Station centrale de Physiologie végétale.

Série B. — *Amélioration des Plantes :* M. MAYER, Directeur de la Station centrale de Génétique et Amélioration des Plantes.

Série C. — *Épiphyties :* M. DARPOUX, Directeur de la Station centrale de Pathologie végétale,
M. TROUVELOT, Directeur de la Station centrale de Zoologie agricole,
M. VIEL, Directeur du Laboratoire de Phytopharmacie.

Série C *bis*. — *Abeille :* M. CHAUVIN, Directeur de la Station centrale de Recherches apicoles de Bures-sur-Yvette.

Série D. — *Zootechnie :* M. BUSTARRET, Inspecteur général de la Recherche Agronomique,
M. A.-M. LEROY, Professeur à l'Institut National Agronomique.

Série E. — *Technologie agricole :* M. FLANZY, Directeur de la Station centrale de Technologie des produits végétaux,
M. MOCQUOT, Directeur de la Station centrale de Technologie des produits animaux.

ADMINISTRATION ET SECRÉTARIAT DE LA RÉDACTION :
Bâtiment provisoire du Palais de Chaillot, PARIS-XVIe. Tél. CARnot 08-00.

TARIF DES ABONNEMENTS POUR 1959

	FRANCE	ÉTRANGER	LE N°
SÉRIE A. — AGRONOMIE	4.000	4.600	800
SÉRIE A *bis*. — PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE	1.500	1.900	500
SÉRIE B. — AMÉLIORATION DES PLANTES	2.600	3.000	800
SÉRIE C. — ÉPIPHYTIES	2.600	3.000	800
SÉRIE C *bis*. — ABEILLE	1.800	2.100	600
SÉRIE D. — ZOOTECHNIE	1.800	2.100	600
SÉRIE E. — TECHNOLOGIE	2.600	3.000	800

Chaque demande de changement d'adresse doit être accompagnée de **40** fr. en timbres-poste.

Les demandes d'abonnements doivent être adressées au Régisseur des Publications de l'Institut National de la Recherche Agronomique, Bâtiment provisoire du Palais de Chaillot, PARIS-XVIe. C.C.P. : PARIS, 9064-43. Elles peuvent être également souscrites par l'intermédiaire de libraires dans les conditions habituelles.

TABLE DES MATIÈRES

LEGAY (J. M.). — Effets d'un traitement temporaire des chrysalides à basse température sur les phénomènes ultérieurs de la reproduction chez *Bombyx Mori* L. 409

GALZY (M^me^ R.). — Observations sur un champignon maculicole des feuilles de vigne 423

MESSIAEN (C. M.), LAFON (R.) et MOLOT (P.). — Nécroses de racines, pourritures de tiges et verse parasitaire du maïs.. 441

DEVERGNE (J. C.). — Identification à partir de *Trifolium repens* L. d'un virus proche du virus de la mosaïque jaune du haricot *Phasoelus virus* 2, SMITH 475

COUTIN (R.). — Quelques particularités du cycle évolutif des cecidomyies. La diapause prolongée des larves et l'apparition différée des imagos 491

LEGAY (J. M.). — Physiologie du ver à soie 501

TABLE DES MATIÈRES DE L'ANNÉE 1959 537

X 909.194